PLANTA

ARCHIV
FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

39. BAND

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, A. ERNST-ZÜRICH, H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK
R. HARDER-GÖTTINGEN, W. SCHUMACHER-BONN, G. TISCHLER-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND OTTO RENNER

39. BAND
MIT 234 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1951

Unveränderter Nachdruck

Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1976

Inhalt des 39. Bandes.

1. Heft.

(Abgeschlossen am 10. April 1951.)

Seite

BOGEN, HANS JOACHIM, Über Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion. I. Mitteilung. Die Wirkung von LiCl und Neutralrot und ihre Abhängigkeit von der Konzentration und dem osmotischen Wert in der Außenlösung. Mit 6 Textabbildungen 1

RUDORF, WILHELM, und PAUL SCHWARZE, Polyploidie-Effekte bei *Datura tatula*. Mit 15 Textabbildungen 36

HÖHN, KARL, Beziehungen zwischen Blutung und Guttation bei *Zea Mays*. Mit 4 Textabbildungen 65

KIRCHHEIMER, FRANZ, Über das Vorkommen einer Gattung der Humiriaceen im europäischen Tertiär. Mit 2 Textabbildungen 75

RUHLAND, WILHELM, und URSULA HEILMANN, Über die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis* für Anelektrolyte bei Narkose mit den homologen Alkoholen C_1—C_9, als Beitrag zur Ultrafiltertheorie 91

2. Heft.

(Abgeschlossen am 7. Mai 1951.)

KAUSSMANN, BERNHARD, Morphologische und anatomische Studien an *Schizocapsa plantaginea* HANCE. Mit 5 Textabbildungen 91

POHL, RICHARD, Das Hemmstoff-Wuchsstoffsystem des Maisskutellums. Mit 3 Textabbildungen 105

BÜNNING, ERWIN, Über die Differenzierungsvorgänge in der Cruciferenwurzel. Mit 28 Textabbildungen 126

SCHAEDE, REINHOLD, Über die Blaualgensymbiose von *Gunnera*. Mit 3 Textabbildungen 154

GESSNER, FRITZ, und GERTRUD VOLZ, Die Kutikula der Hydropoten von *Nymphaea*. Mit 3 Textabbildungen 171

3. Heft

(Abgeschlossen am 8. Juni 1951.)

STEFFEN, KURT, Zur Kenntnis des Befruchtungsvorganges bei *Impatiens glanduligera Lindl.* Cytologische Studien am Embryosack der Balsamineen. Mit 12 Textabbildungen 175

ERTL, LEOPOLD, Über die Lichtverhältnisse in Laubflechten. Mit 6 Textabbildungen 245

4. Heft.

(Abgeschlossen am 13. Juli 1951.)

SCHMITZ, J., Über Beziehungen zwischen Blütenbildung in verschiedenen Licht-Dunkelkombinationen und Atmungsrhythmik bei wechselnden photoperiodischen Bedingungen. (Untersuchungen an *Kalanchoë Bloßfeldiana*.) Mit 26 Textabbildungen 271

Seite

Engel, H., und I. Friederichsen, Das Licht als Ursache periodischer Guttationsschwankungen etiolierter Haferkeimlinge. Mit 18 Textabbildungen 309
Höhn, K., Untersuchungen über den Einfluß von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Entwicklung der Hypokotylknospen von *Linum usitatissimum* und die Kotyledonarknospen von *Vicia Faba* 338
Kahl, H., Über den Einfluß von Schüttelbewegungen auf Struktur und Funktion des pflanzlichen Plasmas. Mit 6 Textabbildungen 346

5. Heft.

(Abgeschlossen am 1. August 1951.)

Linser, H., Versuche zur chromatographischen Trennung pflanzlicher Wuchsstoffe. Mit 16 Textabbildungen 377
Thielke, C., Über die Möglichkeiten der Periklinalchimärenbildung bei Gräsern. Mit 20 Textabbildungen 402
Haeckel, A., Beitrag zur Kenntnis der Pollenfermente. Mit 12 Textabbildungen 431
Bünning, E., Der tagesperiodische Verlauf der Substanzproduktion und speziell der Zellulosesynthese in Beziehung zur photoperiodischen Reaktionsweise. Mit 4 Textabbildungen 460

6. Heft.

(Abgeschlossen am 5. September 1951.)

Wetter, C., Über die Luftwurzeln von *Oleandra*. Mit 3 Textabbildungen . . 471
Kühlwein, H., und H. Anhaeusser, Veränderungen des Gymnospermenpollens durch Lagerung. Mit 2 Textabbildungen 476
Hövermann, I., Über Strukturveränderungen an Chromozentrenkernen unter dem Einfluß von Aminosäuren und ähnlichen Substanzen. Mit 11 Textabbildungen. 480
Zeller, O., Über Assimilation und Atmung der Pflanzen im Winter bei tiefen Temperaturen. Mit 9 Textabbildungen 500
Kirchheimer, F., Über *Antweileria* und andere Gattungen der Juglandaceen. Mit 4 Textabbildungen 527
Ernst-Schwarzenbach, M., Die Ursachen der verminderten Fertilität von *Elodea*-Arten. Mit 5 Textabbildungen. 542
Enderle, W., Tagesperiodische Wachstums- und Turgorschwankungen an Gewebekulturen. Mit 11 Textabbildungen. 570
Autorenverzeichnis. 589

Planta, Bd. 39, S. 1—35 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn.

ÜBER KAPPENPLASMOLYSE UND VAKUOLENKONTRAKTION.

I. Mitteilung.

DIE WIRKUNG VON LiCl UND NEUTRALROT UND IHRE ABHÄNGIGKEIT VON DER KONZENTRATION UND DEM OSMOTISCHEN WERT IN DER AUSSENLÖSUNG.

Von

HANS JOACHIM BOGEN.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. November 1950.)

1. Einleitung.

Unter dem Namen „Vakuolenplasmolyse" beschrieb FITTING (1920) eigenartige Veränderungen des Cytoplasmas, wie sie unter der Einwirkung hypo- und hypertonischer Glyzerinlösungen auftraten. Es handelte sich um Aufquellungserscheinungen, die zum Teil ganz ungewöhnliches Ausmaß annehmen können. Diese für Fragen der Plasmastruktur höchst interessanten Beobachtungen blieben zunächst einige Jahre lang unbeachtet, bis sie 1926 von KÜSTER und 1928 von HÖFLER — unter anderen Bedingungen — erneuert und zugleich mit jenen Bezeichnungen belegt wurden, wie sie uns heute geläufig sind: Vakuolenkontraktion (an unplasmolysierten Zellen, KÜSTER 1926) und Kappenplasmolyse (an plasmolysierten Zellen, HÖFLER 1928). Seither haben diese Phänomene immer wieder die Aufmerksamkeit der Zellphysiologen auf sich gezogen, und heute liegt darüber eine große Zahl von Untersuchungen vor (Literatur bei HOUSKA 1941). Soweit sich ihre Autoren bemüht haben, die zugrunde liegenden plasmatischen Strukturen und Reaktionen aufzuklären, sind die Ergebnisse freilich noch recht problematisch, und noch zuletzt hat HÖFLER (1939) mit Nachdruck auf die mangelnde Übereinstimmung mit den Vorstellungen der submikroskopischen Morphologie hingewiesen. Die Frage nach der Ätiologie von Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion, deren Lösung für die Kenntnis des Plasmaaufbaus von größter Bedeutung sein kann, ist also noch durchaus offen, und es scheint sehr wünschenswert, die Frage erneut und auf breiterer Basis anzugehen und zugleich zu versuchen, über qualitative Feststellungen hinaus quantitative Messungen durchzuführen.

Das Problem ist indessen sehr vielschichtig und erfordert eine sehr weite Ausdehnung der Untersuchungen. Es wird daher nicht möglich sein, sie in den Rahmen einer einzigen Veröffentlichung zu fassen. Zudem hielten wir es für zweckmäßig, der sehr diffizilen Kausalanalyse der

Plasmaaufquellung eine Analyse jener Bedingungen voranzustellen, unter denen eine solche Aufquellung überhaupt erreicht werden kann. Dabei ergab sich schon frühzeitig die große Bedeutung der osmotischen Verhältnisse und der Konzentration der auslösenden Agenzien. Die vorliegende erste Veröffentlichung der Reihe enthält daher nur Versuche, die sich mit diesen beiden Faktoren befassen.

2. Kurze Übersicht über Terminologie und bisherige Ergebnisse an Hand der Literatur.

Als *Kappenplasmolyse* bezeichnen wir eine Volumenzunahme („Aufquellung") des Cytoplasmas plasmolysierter Zellen. Sie tritt in *hypertonischer* Lösung verschiedener Alkaliionen (K, Li) auf, ist aber auch in $Ca(NO_3)_2$ (KÜSTER, LANZ 1942), Rohrzucker (HÖFLER 1950), Glyzerin (FITTING 1920) und Harnstoff (REUTER 1949) beobachtet worden. Diese Aufquellung ereignet sich meist in bestimmten Regionen des Protoplasten, nämlich an den freien Menisken. Seltener quellen systrophisch um den Kern versammelte Plasmaportionen, und an den Stellen, wo der Protoplast der Zellwand (unter einem gewissen Druck) noch anliegt, tritt überhaupt keine Aufquellung ein. Bei dieser Kappenplasmolyse bleibt das *Vakuolen*volumen nahezu unverändert; vom Plasma zusätzlich unter Volumenzunahme aufgenommenes Wasser wird anscheinend der plasmolysierenden Lösung gegen deren Saugkraft entnommen. — Die Aufquellung erreicht stets einen endlichen Grad, der je nach den gestellten Bedingungen verschieden groß ist. Sie kommt spätestens zum Stillstand, wenn das Cytoplasma den gesamten Raum zwischen Vakuole und Zellwand ausfüllt. In diesem Stadium ist die Zelle nicht zu unterscheiden von einer anderen Zelle, die eine starke Vakuolenkontraktion durchgemacht hat:

Bei der *Vakuolenkontraktion* ist ebenfalls eine Volumenzunahme des Cytoplasmas zu konstatieren; sie vollzieht sich jedoch in *hypotonischen* Lösungen, Leitungswasser: WEBER 1930, Alkaliionen: HÖFLER 1928, Neutralrot: KÜSTER 1926, Glyzerin: FITTING 1920, Verwundung, mechanische Schäden: GICKLHORN und WEBER 1926, KEIL 1930, spontan: WEBER 1930) in unplasmolysierten Zellen also, und zwar auf Kosten des Vakuolenvolumens. Die Vakuole verliert auf nicht osmotischem, im übrigen aber vorerst noch kaum überschaubarem Wege einen Teil ihres Wassers. Dieses wird vom Cytoplasma unter Aufquellung aufgenommen, so daß das Gesamtvolumen des Protoplasten unverändert bleibt. Die Bezeichnung *Vakuolen*kontraktion deutet an, daß die Erscheinung nicht ausschließlich durch das Cytoplasma veranlaßt wird, sondern daß in einem einstweilen ungeklärten Ausmaße auch die Vakuole mitbeteiligt ist. — Meist ist die Vakuolenkontraktion gering, so daß

nur in den Ecken der Zellwände etwas aufgequollenes Plasma sichtbar wird. Es gibt aber auch Fälle sehr starker Vakuolenkontraktionen: dann verkleinert sich das Vakuolenvolumen ebensostark wie bei einer kräftigen Plasmolyse mit hypertonischen Lösungen; das Cytoplasma löst sich jedoch nicht von der Zellwand ab, sondern füllt den gesamten Raum zwischen Vakuole und Zellwand aus. Dieses Bild wird mit dem wenig verständlichen Ausdruck *Tonoplastenplasmolyse* belegt. Man kann einer Tonoplastenplasmolyse nicht ansehen, ob sie im Gefolge einer starken Vakuolenkontraktion aufgetreten oder aus einer Kappenplasmolyse entstanden ist.

Wegen ihrer Verwandtschaft zu der vorgenannten Vakuolenkontraktion seien noch zwei Erscheinungen angeführt, die sich hauptsächlich in der Vakuole abspielen, ohne erkennbare Mitwirkung des Cytoplasmas: die Reizplasmolyse und die Synärese.

Reizplasmolyse (GICKLHORN und WEBER 1926) zeigt sich gleichfalls in hypotonischen Medien, selbst in destilliertem Wasser, und sie besteht wie die Vakuolenkontraktion in einer Abgabe von Vakuolenwasser. Dieses wird jedoch nicht von dem umgebenden Cytoplasma aufgenommen, sondern gelangt durch dieses hindurch nach außen in den „Vorraum"; daher unterscheidet sich das so erhaltene Bild nicht von dem einer echten Plasmolyse, bei der das Wasser der Vakuole auf osmotischem Wege entzogen wurde.

Bei der *Synärese* (GICKLHORN und WEBER 1926), die häufig bei der Präparation von Korollzellen der Borragineen und Ranunculaceen eintritt, erfährt die hier stark kolloidhaltige Vakuole eine „Entmischung" in einen gelartigen und einen solartigen Teil, d. h. die vordem wasserreichen Vakuolenkolloide geben einen Teil des Wassers ab. Dieses bleibt jedoch innerhalb der Vakuole und umgibt den gelartigen Vakuolen-„Kern". Das Plasma quillt auch hier *nicht* auf. Der Vorgang kann sich übrigens im gelartigen Vakuolenanteil nochmals wiederholen, so daß schließlich die ganze Vakuole ein dreiphasiges System zu werden vermag.

Auf den ersten Blick läßt sich in den angeführten vier Phänomenen wenig Gemeinsames entdecken, und in der Tat ist bisher eine gemeinsame Besprechung kaum einmal versucht worden. Lediglich WEBER hat auf die große Ähnlichkeit zwischen Vakuolenplasmolyse und Vakuolenkontraktion hingewiesen und die Ansicht geäußert, die Kappenplasmolyse sei eine Plasmolyse mit Vakuolenkontraktion (1930); die übrigen Autoren haben den Effekten jedoch durchaus verschiedene Ursachen und Mechanismen zugeschrieben, zumal sie keineswegs an allen Pflanzenzellen beobachtet werden können. Die Kappenplasmolyse wird so erklärt, daß durch Einwirkung stark „quellender" Salze bzw. Ionen zunächst Intrabilitätserhöhung und Permeabilitätsherabsetzung

stattfinde, wodurch die betreffenden Salze das Binnenplasma überschwemmen und direkt zur Aufquellung veranlassen. Bei der Vakuolenkontraktion, die in manchen Fällen unter Permeabilitäts*erhöhung* abläuft, legt man mehr Gewicht auf die Auslösbarkeit durch sehr verschiedene Agenzien und auf ihre Reversibilität; sie wird, ebenso wie die Reizplasmolyse und Synärese, zu den Reizerscheinungen gestellt und auf reversible Entmischung von Zellsaftkolloiden zurückgeführt.

Formal betrachtet, lassen sich gleichwohl 2 Eigenschaften herausstellen, die den 4 Effekten gemeinsam sind:

1. Einige Komponenten des Protoplasten können auf bestimmte Einwirkungen hin ihren Hydratationsgrad verändern: die *Vakuole* in Richtung auf eine Hydratationsherabsetzung, das *Cytoplasma* auf eine Hydratationserhöhung. Entweder tritt die Hydratationsherabsetzung der Vakuole allein auf (Synärese, Reizplasmolyse), oder die Hydratationserhöhung des Cytoplasmas allein (Kappenplasmolyse), oder beide sind so miteinander gekoppelt, daß es zu einer Verschiebung von Hydratationswasser aus der Vakuole in das Cytoplasma kommt (Vakuolenkontraktion, in bestimmten Fällen auch Kappenplasmolyse).

2. Sie sind reversibel: Reizplasmolyse, Synärese und Vakuolenkontraktion regelmäßig, Kappenplasmolyse wenigstens unter gewissen Bedingungen (HÖFLER 1939, HOUSKA 1941).

Wenn wir dieses Gemeinsame in den Vordergrund zu stellen versuchen, so sind wir uns bewußt, daß unsere Betrachtungsweise *eine* von mehreren möglichen ist, nicht mehr, aber auch nicht weniger berechtigt als die anderen. Wir haben es an den Anfang unserer Erörterungen gestellt, weil sich dabei günstige Ansätze für weitere Untersuchungen erkennen ließen, und weil einige der früher entwickelten Kausalvorstellungen durch unsere Ergebnisse berichtigt werden können.

3. Experimenteller Teil.

A. Material, Methode.

Als Versuchsmaterial haben wir Epidermiszellen von Zwiebelschuppen verwendet, und zwar von einer Art, die als „italienische Zwiebeln" im Frühjahr 1949 in Göttingen in den Handel kam. In den Zellen der unteren Epidermis sind die Vakuolen durch Anthocyan nicht sehr intensiv, aber gleichmäßig violettrot gefärbt, während die obere Epidermis vollständig farblos ist. Beide Zellarten sind verhältnismäßig plasmaarm, so daß die Vakuolen nur selten durch Plasmastränge zerklüftet sind. Aus diesem Grunde hielten wir die Verwendung dieser Sorte für besonders empfehlenswert.

Wir beschafften uns einen genügend großen Vorrat gleicher Herkunft und lagerten das Material bei 10—12° C im Dunkeln. Für jede Versuchsserie wurden alle zu vergleichenden Schnitte (meist 18—24) von einer einzigen Zwiebel genommen. Hierzu wurden zunächst die beiden äußeren Schuppen entfernt, so daß für Ober- und Unterepidermis regelmäßig nur die 3. Schuppe Verwendung fand. Die Gewebestücke stammten sämtlich aus der „Äquator"-Zone, sie

wurden aus der Unterepidermis durch flache Rasiermesserschnitte, aus der Oberepidermis nach der von STRUGGER (1949) gegebenen Vorschrift gewonnen. Sie gelangten nach kurzem Abspülen in doppelt destilliertem Wasser entweder (zwecks Wässerung) in frisches doppelt destilliertes Wasser oder aber in die betreffenden Versuchslösungen. Hatten letztere einen besonders hohen osmotischen Wert, so haben wir die Gewebestreifen zunächst in schwächere Lösungen gebracht und erst stufenweise in höhere Konzentrationen übertragen.

Für alle Versuche war es entscheidend wichtig, Schnitte möglichst gleichmäßiger Dicke herzustellen. Die Zellen dünner Schnitte wie auch die Randzonen zeigten regelmäßig extrem starke Kappenplasmolyse, deplasmolysierten schnell und starben frühzeitig ab, während in dicken Schnitten oft erst nach Tagen schwache Kappenplasmolyse einsetzte. Aber auch hier — wie an dickeren Schnittstellen — starben die Zellen früher ab als in Schnitten mittlerer Dicke.

Untersuchungsflüssigkeiten.

1. Göttinger Leitungswasser.

2. Doppelt (glas-) destilliertes Wasser, spätestens 24 Std nach der letzten Destillation verwendet.

3. Pufferlösungen: Phosphatpuffer p_H 72,, Herstellung nach STRUGGER (1949).

4. Salzlösungen: KCNS, KNO_3, KCl und insbesondere LiCl in Leitungswasse , doppelt destilliertem Wasser oder Phosphatpuffer. Sämtliche Salze Merck p. a. Die Konzentrationen wurden in Mol/l angegeben; Berechnung der osmotischen Werte nach URSPRUNG bzw. BRAUNER.

5. Rohrzuckerlösungen: Saccharose albiss. Merck in Leitungswasser, doppelt destilliertem Wasser oder Phosphatpuffer. Atmosphärenwerte wie bei 4.

6. Kombinierte Lösungen: Herstellung jeweils durch Einwaage.

7. Neutralrot: Bayer standard. Stammlösung 1:1000 in doppelt destilliertem Wasser, Verdünnung auf 1:10000 mit Zusatz von Pufferlösung bzw. Rohrzucker.

Versuchsgefäße: Meßkolben von 25—1000 cm^3 aus Jenaer Geräteglas, Esmarchschälchen aus Neutralglas und gewöhnlichem Hohlglas.

Messungen: In jede Versuchslösung bzw. Konzentrationsstufe kamen mindestes 2, meist 3 Schnitte. In jedem Schnitt wurden 5 beliebig herausgegriffene Zellen ausgemessen.

Wir benützten die plasmometrische Methode HÖFLERs mit der von HOUSKA (1941) für die Kappenplasmolyse angegebenen Erweiterung. Allerdings haben wir die Dimension der Meßzahlen anders gewählt, um zu anschaulicheren Zahlenwerten zu gelangen: Wir drücken im folgenden das Volumen der Vakuole V_v und das Volumen des Cytoplasmas V_{pl} in Prozenten des Volumens der entspannten Zelle aus. Verglichen mit dem Plasmolysegrad G HÖFLERs, der in Zahlenwerten zwischen 1 und 0 angegeben wird, gilt die Beziehung: Volumen der Vakuole $V_v = 100 \times G$ (G = Plasmolysegrad nach HÖFLER). Das Volumen des Cytoplasmas ist $V_{pl} = 100 \times p$ (p = relatives Kappenvolumen nach HOUSKA 1941). Die Messungen der Zellbreiten und -längen sowie der Protoplastenlängen wurde mit Hilfe eines Schrauben-Mikrometerokulars nach LEITZ durchgeführt.

Um das Volumen des Cytoplasmas möglichst eindeutig zu erfassen, haben wir regelmäßig nur solche Protoplaste ausgemessen, bei denen

der Zellkern nicht in den Kappen lag, sondern ± in der Mitte des Plasmaschlauches, „wandständig".

Je nach der Geschwindigkeit des Versuchsablaufes wurden 1-, 2- oder 3mal täglich alle Schnitte durchgemessen. Dabei haben wir absichtlich zu jedem Zeitpunkt *andere* Zellen ausgesucht, um eine „Vorselektion" möglichst auszuschalten. Für besondere Fragen (vgl. Versuch 2) wurden allerdings zu den verschiedenen Zeitmarken immer die gleichen Zellen gemessen. Es war verhältnismäßig leicht möglich, die betreffenden Zellen an Hand einer Skizze wiederzufinden.

Wir haben V_v und V_{pl} für jede Zelle einzeln berechnet und aus den 10, 15 oder 20 Einzelwerten eines jeden Zeitpunktes den Mittelwert sowie den mittleren Fehler berechnet. Der mittlere Fehler lag durchweg *unter* ± *10%* des Mittelwertes; lediglich bei einigen Serien, in denen nur jeweils 10 Zellen ausgemessen werden konnten, ergaben sich höhere Streuungen bis zu ± 23% des Mittelwertes.

In den graphischen Darstellungen haben wir im Interesse der Übersichtlichkeit auf die Eintragung der Fehlergrenzen verzichtet; nur in Abb. 3 sind sie eingezeichnet.

B. Vorversuche.

Unter Verzicht auf quantitative Auswertung wurde in zahlreichen Vorversuchen eine Reihe von Salzen geprüft, deren Fähigkeit zur Ausbildung von Kappenplasmolyse bekannt ist. Wir verwendeten hierzu KCNS, KNO_3, KCl und LiCl in mittleren Konzentrationen (meist 0,525 Mol). Es ergab sich zunächst, daß die Aufquellung des Cytoplasmas in KCNS am stärksten war; sie fiel ab nach der Reihe

$$KCNS > LiCl > KNO_3 > KCl.$$

In der gleichen Reihenfolge wurde die Eintrittszeit der Kappenplasmolyse verkürzt, d. h. in KCNS war die Kappenplasmolyse sehr früh, in KCl am spätesten zu beobachten. Aus dieser Reihe haben wir für die Hauptversuche das ungefähr in der Mitte liegende LiCl dem KCNS vorgezogen. Im KCNS starben nämlich die meisten Zellen bereits nach 10—15 Std ab, während sie im LiCl über viele Tage am Leben blieben. Ferner trat in den mit LiCl behandelten Schnitten die Kappenplasmolyse sehr gleichmäßig in nahezu allen Zellen eines jeden Schnittes ein; eine Zonenbildung wurde nur sehr selten festgestellt. Der wichtigste Grund war jedoch die Beobachtung, daß im LiCl nach 2—4 Tagen (je nach Konzentration) ein Rückgang des Aufquellungsgrades einsetzt, die Kappenplasmolyse also reversibel ist.

Nachteilig war die anfänglich oft unvollständige Rundung der plasmolysierten Protoplaste. Wir haben daher zur Orientierung versucht, die Schnitte vor der Behandlung mit LiCl in isosmotischer Rohrzuckerlösung einer Vorplasmolyse zu unterwerfen. Schon nach einstündiger Vorplasmolyse waren die Protoplaste meist ideal gerundet, während Eintrittszeit und Grad der Kappenplasmolyse unverändert erschienen. Wir konnten diesen Befund später an Hand quantitativer Auswertungen bestätigen (Versuch 1, 2a, 2b).

C. Hauptversuche.

1. Reihe: Kappenplasmolyse mit LiCl, Unterepidermis.

Versuch 1. Hier sollten in erster Linie Grad und zeitlicher Ablauf der Cytoplasmaaufquellung in Abhängigkeit von der Konzentration des auslösenden Salzes gemessen werden. Der Versuch wurde in 2 Serien angesetzt: In Serie S gelangten die Schnitte unmittelbar nach Anfertigung in die Salzlösungen, in Serie D erst nach $^1/_2$ stündiger Wässerung in doppelt destilliertem Wasser. Um konkave Plasmolyseformen möglichst zu vermeiden, wurden alle Schnitte einer Serie erst in die niedrigste Konzentrationsstufe eingetragen (0,4 Mol), die für die höheren Konzentrationen bestimmten Schnitte wurden erst nach 10 min in die nächsthöhere Konzentrationsstufe übergehoben usw., so daß z. B. der 4. Schnitt der 2. Serie erst $^1/_2$ Std in Wasser, dann je 10 min in 0,4, 0,6 und 0,8 Mol LiCl-Lösung lag. Protokoll eines derartigen Versuches:

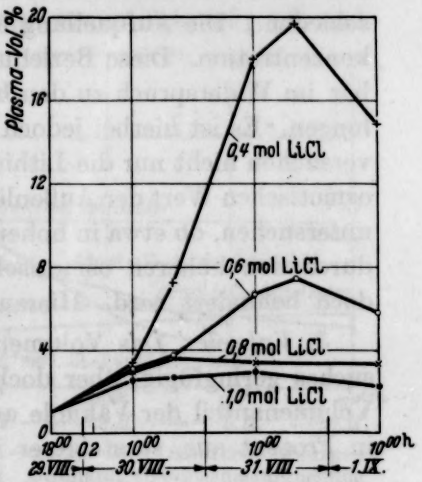


Abb. 1. Zeitlicher Ablauf der Kappenplasmolyse in LiCl verschiedener Konzentration. Ordinate: Cytoplasmaaufquellung in Vol.-% (der entspannten Zelle), Abszisse: Zeit. (Zu Versuch 1.)

29. 8. 49. *Allium Cepa*, italienische Handelssorte, anthocyanhaltig. LiCl 0,4 bis 1 Mol in doppelt destilliertem Wasser. 3. Schuppe von außen, untere Epidermis, Mittelregion, insgesamt 24 Schnitte.

17^{30} S_{1-4}, Schnitte direkt nach Anfertigung in 0,4 Mol LiCl, davon S_{2-4} 17^{45} in 0,6 Mol, daraus S_{3-4} 18^{00} in 0,8 Mol, endlich S_4, 18^{15} in 1 Mol LiCl.

D_{1-4} Schnitte 17^{30} in Wasser, 18^{00} in 0,4 Mol LiCl, D_{2-4}, 18^{10} in 0,6 Mol, D_{3-4}, 18^{20} in 0,8 Mol, D_4 18^{30} in 1 Mol LiCl. Versuchsdauer bis 1. 9. 49, 10^{00}.

In jeder Konzentrationsstufe befanden sich jeweils 2 Parallelschnitte, aus denen mindestens je 5 wahllos herausgegriffene Zellen 2mal täglich ausgemessen wurden, bei jeder Messung andere Zellen. Da die D- und S-Versuche innerhalb der Versuchsfehler die gleichen Werte ergaben, wurden diese zusammen behandelt. Jeder Meßpunkt stellt also einen Mittelwert aus wenigstens 20 Einzelzellen dar. Das Ergebnis, das in fünfmaliger Wiederholung in allen Punkten bestätigt werden konnte, ist in Abb. 1 dargestellt.

1. Kurvengestalt. Es sind eingipfelige Kurven; das Maximum wird etwa 48 Std nach Versuchsbeginn erreicht. Nach weiteren 24 Std ist allseitig ein leichtes Abfallen zu verzeichnen. Leider war eine noch längere Auswertung hier nicht möglich, weil die Zellen in einigen Schnittpartien abzusterben begannen. Trotzdem liefert dieser Befund einen ersten Anhaltspunkt dafür, daß die Kappenplasmolyse *reversibel* ist,

auch ohne daß die Schnitte in eine „entquellende", „abdichtende" Ca^{++}-Lösung übertragen werden (Höfler 1939, Houska 1941).

2. Maximalwerte. Die maximale Aufquellung des Cytoplasmas ist um so stärker, je *niedriger* die angewendete Lithiumkonzentration ist: in 0,4 Mol 18%, in 0,6 Mol 7,5%, in 0,8 Mol 3,6% und in 1 Mol 1%. (Die Zahlen geben jeweils das Volumen des aufgequollenen Cytoplasmas an, ausgedrückt in Prozenten des Volumens der entspannten Zellen. — In den 5 Wiederholungen ergaben sich stets die gleichen Reihenfolgen, nur waren die Maximalwerte bei den einzelnen Zwiebeln etwas unterschieden.) Die Aufquellung ist also *umgekehrt* proportional der Außenkonzentration. Diese Beziehung ist sehr überraschend und steht scheinbar im Widerspruch zu den bisherigen Erfahrungen und Kausalvorstellungen. Es ist hierbei jedoch zu bedenken, daß wir in unseren Reihenversuchen nicht nur die Lithiumkonzentration, sondern damit auch den osmotischen Wert der Außenlösung verändert haben. Wir mußten daher untersuchen, ob etwa in hohen Lithiumkonzentrationen die Aufquellung durch den höheren osmotischen Wert der Lösung unterbunden oder doch behindert wird. Hierzu diente Versuch 2 (s. unten).

3. Vakuole. Das Volumen der Vakuole nimmt im Laufe des Versuches geringfügig, aber doch deutlich meßbar, zu. Drücken wir den Volumenanteil der Vakuole am Gesamtvolumen der entspannten Zelle in Prozent aus, so steigt er im Versuch 1 in

0,4 Mol LiCl:	52,5	—55,6	—56,3	—57,3
in 1 Mol LiCl:	27	—32	—34	—39

Man kann daraus — mit allen Vorbehalten hinsichtlich Anatonose, Hydratationssteigerung von Vakuolenkolloiden usw. — den Stundenwert der Stoffaufnahme zu 0,001—0,003 Mol LiCl/Std errechnen. Er ist bei den kappenfreien Kontrollen keinesfalls höher; überdies entspricht er durchaus den Werten Fittings für LiCl an normaler Blattepidermis von Rhoeo (1915). Damit besteht kein Anlaß, den Kappenzellen eine Permeabilitätsherabsetzung zuzuschreiben (Höfler 1928, Strugger 1949).

4. Kern. Auch das Kernvolumen ändert sich bei der Aufquellung des Cytoplasmas. Obgleich die Werte stark streuen, ist doch zu erkennen, daß der größte Kerndurchmesser allmählich zunimmt: von 54 über 60,5—67 Meßeinheiten (in 0,4 Mol; in höheren Konzentrationen ist der Kerndurchmesser nicht mit Sicherheit zu bestimmen). Der *zeitliche* Gang der Volumenzunahme ist bei Kern und Cytoplasma gleich; dagegen erreicht der Aufquellungs*grad* des Kernes nicht im entferntesten den des Plasmas: während das Plasmavolumen von anfänglich 0,5—1% des Gesamtvolumens der entspannten Zelle auf 18% (in 0,4 Mol LiCl) ansteigt, d. h. auf das 20—30fache, wird das Kernvolumen nur etwa verdoppelt.

5. Mehrfach zerfielen die Protoplaste bei der Plasmolyse in 2 Teilstücke. In solchen Fällen haben wir regelmäßig beobachtet, daß der kernlose Teilprotoplast stärkere Kappen zeigt als der kernhaltige. Das legt die Vermutung nahe, daß

zwischen Kern und Cytoplasma eine Art Konkurrenz um das Li oder um das Hydratwasser besteht. Hierüber sollen spätere Versuche Aufschluß geben.

Versuch 2a. Zur Bestätigung unserer Vermutung aus Versuch 1, die Aufquellung werde in höherkonzentrierten LiCl-Lösungen durch den höheren osmotischen Wert behindert, war es erforderlich, den Salz-(oder Ionen-)Effekt vom osmotischen Effekt zu trennen. Hierzu wurden verschiedene LiCl-Konzentrationen durch Kombination mit einem möglichst neutralen Stoff — im Versuch Rohrzucker — auf gleiche osmotische Wirksamkeit gebracht. Als Ausgangslösung diente 0,5 Mol LiCl, osmotischer Wert 21 Atm. Die übrigen Lösungen waren 0,4, 0,3, 0,2 und

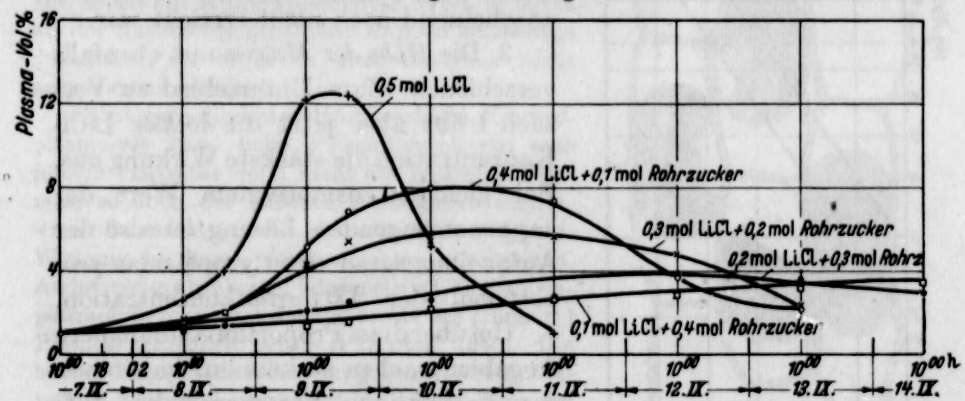


Abb. 2. Zeitlicher Ablauf der Kappenplasmolyse in 0,1—0,5 Mol LiCl. Sämtliche Lösungen durch Rohrzuckerzusatz isotonisch mit 0,5 Mol LiCl. Ordinate: Cytoplasmaaufquellung in Vol.-%, Abszisse: Zeit. (Zu Versuch 2.)

0,1 Mol, jeweils mit soviel Rohrzuckerzusatz daß der gesamte osmotische Wert ebenfalls 21 Atm. betrug.

Protokoll eines derartigen Versuches: 7. 9. 49 Material wie in Versuch 1. 11^{40} Uhr geschnitten, nach kurzem Abspülen in doppelt destilliertem Wasser in die Lösungen übertragen. Versuchsdauer bis 14. 9., 10^{00} Uhr. Graphische Darstellung in Abb. 2. In jeder Konzentrationsstufe befanden sich 3 Parallelschnitte, aus denen je 5 Zellen zweimal täglich ausgemessen wurden. Jeder Punkt der Abbildung enthält also 15 Einzelmessungen.

Ergebnisse. 1. Kurvenverlauf. Die Kurven zeigen klare Maxima; Anstieg und Abfall sind annähernd symmetrisch. Die Kappenplasmolyse ist also reversibel, und zwar geht sie in der gleichen Lösung zurück, in der sie entstanden ist.

Um zu vermeiden, daß der Effekt der Reversibilität nur durch unsere Meßmethode (Ausmessen *verschiedener* Zellen zu den verschiedenen Zeitpunkten) vorgetäuscht werde, haben wir in weiteren Serien fortlaufend die *gleichen* Zellen gemessen. Das Ergebnis unterschied sich nicht vom vorhergehenden. Auch fanden wir mehrfach gegen Versuchsende Zellen mit geringer Kappenplasmolyse, die in weiter Entfernung vom derzeitigen Kappenmeniskus ein kleines Häutchen ebenfalls in Meniskusform zeigten. Dabei handelt es sich um eine Erscheinung, wie sie ähnlich bereits von KAISERLEHNER (1939) als „Ca-Fällungshäutchen" beschrieben wurde. Sie ist so zu erklären, daß sich im Stadium maximaler Kappenplasmolyse

am Kappenmeniskus eine Niederschlagsmembran bildet, die bei anschließender Entquellung dem zurückgehenden Meniskus nicht folgt, sondern stehen bleibt. Mißt man ihren Abstand von der Vakuole aus, und berechnet hieraus das Maximalvolumen des Cytoplasmas, so erhält man in der Tat Prozentzahlen, die dem Durchschnittswert maximaler Kappenplasmolyse entspricht. Das beweist gleichfalls die Reversibilität der Kappenplasmolyse.

2. Die *zeitliche Lage der Maxima* ist gegenüber Versuch 1 verschieden: in 0,5 n LiCl wird das Maximum nach etwa 54 Std, in 0,4 n Rohrzucker nach 72 Std, in 0,3 nach 80 Std, in 0,2 nach 120 Std, während in 0,1 n nach 144 Std die maximale Aufquellung anscheinend noch nicht erreicht war.

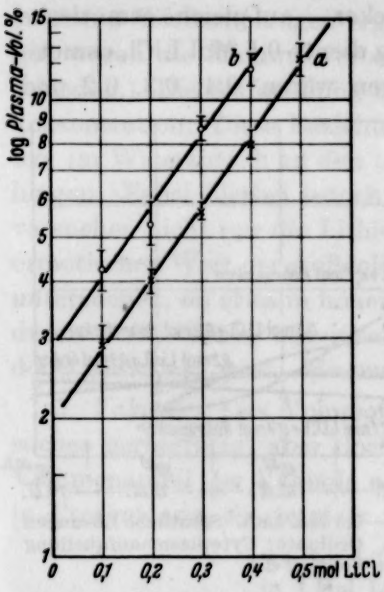


Abb. 3. Abhängigkeit der maximalen Aufquellungsgrade des Cytoplasmas (aus Abb. 2) von der LiCl-Konzentration. *a* Plasmolyse unmittelbar in den Kombinationslösungen LiCl + Rohrzucker; *b* nach Vorplasmolyse in Rohrzuckerlösung. Ordinate: Cytoplasmaaufquellung in Vol.-%, logarithmischer Maßstab, Abszisse: LiCl-Konzentration. (Zu Versuch 2a und b.)

3. Die *Höhe der Maxima* ist ebenfalls verschieden. Zum Unterschied zu Versuch 1 übt aber jetzt die *höchste* LiCl-Konzentration die stärkste Wirkung aus. Bei gleichem osmotischem Wert der kappenerzeugenden Lösung ist also der Aufquellungsgrad des Cytoplasmas *proportional* der Li-*Partial*konzentration.

Um über diese Proportionalität nähere Angaben machen zu können, haben wir den Logarithmus des *maximalen* Aufquellungsgrades in Abhängigkeit von der Li-Konzentration dargestellt: Abb. 3, untere Gerade (*a*). Die einzelnen Punkte liegen auf einer Geraden; die Beziehung läßt sich ausdrücken durch die Formel (1):

$$V_{pl} = e^{k \cdot C}, \qquad (1)$$

worin V_{pl} die Volumenprozente des aufgequollenen Cytoplasmas, C die LiCl-Konzentration der Außenlösung und k eine Konstante darstellen. Damit ist über die *Binnen*konzentration natürlich nichts ausgesagt; immerhin könnte die so formulierte Beziehung als Ausdruck einer (Austausch-?) Adsorption aufgefaßt werden. Formel (1) hat jedoch nur Gültigkeit, wenn die verschiedenen Konzentrationsstufen gleiche osmotische Wirksamkeit haben, d. h. die Konstante k ändert sich mit dem osmotischen Wert der Lösung (Versuch 1 und 3). *Die Aufquellung des Cytoplasmas bei der Kappenplasmolyse ist nicht nur von der Lithiumkonzentration, sondern auch vom osmotischen Wert* abhängig.

4. Auch an sich *hypotonische* Lithiumkonzentrationen (0,2 und 0,1 Mol) können Kappenplasmolyse erzeugen, wenn ihr osmotischer

Wert, beispielsweise durch Rohrzuckerzusatz, erhöht wird. Zum Auftreten der Kappenplasmolyse ist also zunächst erforderlich, daß die Zelle plasmolysiert wird; danach sind nur noch *geringe Lithium*mengen erforderlich, um die Aufquellung auszulösen (vgl. Versuch 6).

5. *Plasmolyseform.* In 0,5 Mol LiCl war die Plasmolyseform im allgemeinen ideal konvex; je *geringer* aber die Lithiumkonzentration war, um so häufiger bzw. stärker bzw. länger trat Krampfplasmolyse auf. Im Extremfall (0,1 Mol LiCl + Rohrzucker) zeigten wenigstens 50% der Zellen noch nach 6 Tagen starke Krampfplasmolyse. Im reinen Rohrzucker hingegen (21 Atm.) war von Anfang an gute Rundplasmolyse zu beobachten. Die Zellen mit Krampfplasmolyse waren übrigens an der Ausbildung deutlicher Kappen keineswegs verhindert, nur konnten diese natürlich nicht ausgemessen werden.

Führt man, wie dies vielfach geschieht, Krampfplasmolyse bzw. hohe Plasmolysezeit auf eine höhere Viscosität wenn nicht des gesamten Plasmas, so doch der äußeren Plasmahaut zurück, so muß man dem LiCl eine viscositäts*steigernde* Wirkung in diesen Grenzschichten zuschreiben. Andererseits aber erzeugt das gleiche LiCl Kappenplasmolyse und setzt die Viscosität des (Binnen-) Plasmas erheblich herab (PEKAREK 1940). Die beiden Phänomene haben entgegengesetzt gerichtete Konzentrationsgradienten; mithin kann bei Kappenplasmolyse die Viscosität des Binnenplasmas niedriger, die der Grenzschichten höher sein als im Normalfall. Damit wird erneut dokumentiert, daß Binnenplasma und Grenzschichten sich gegenüber dem gleichen Salz gerade entgegengesetzt verhalten können.

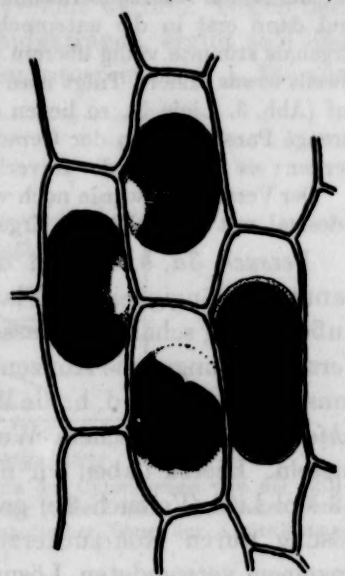


Abb. 4. Plasmolysebilder nach zweitägiger Vorbehandlung mit 0,1 Mol LiCl + 0,4 Mol Rohrzucker. Zum Teil beginnende Kappenplasmolyse; in anderen Zellen bläschenförmige Einstülpungen der Vakuole. (Zu Versuch 2a und b.) Nach einer Mikrophotographie gezeichnet, etwas vereinfacht. Schwarz und schraffiert: Anthocyanhaltige Vakuole, punktiert: Cytoplasma. Die Kerne liegen *nicht* in den Einstülpungen, sondern oberhalb der schwarz gezeichneten Vakuolen; sie wurden daher nicht eingezeichnet.

6. *Vakuolenverhalten.* Mehrfach in 0,2 Mol LiCl, häufig in 0,1 Mol wurden auffällige Vakuolenbilder erhalten (Abb. 4). Etwa 1—2 Tage nach Versuchsbeginn, d. h. noch *bevor* Kappenplasmolyse deutlich sichtbar wurde, bildeten sich kleine bläschenförmige Einstülpungen in der Vakuole aus; sie lagen regelmäßig am Rande des Protoplasten, und zwar vorwiegend an den Längsseiten der Zellen. Sie waren scharf umgrenzt und farblos, und die zurückgedrängte gefärbte Vakuole lag ihnen teilweise an. Genauere Betrachtung lehrte, daß diese Einstülpungen von einer feinen Plasmalamelle überdeckt waren und *nur* die Vakuole betrafen. Offenbar liegen sie zwischen innerer und äußerer Plasmahaut. Ihr Auftreten ist nicht an convex-plasmolysierte Protoplasten gebunden, sondern auch an Zellen mit Krampfplasmolyse zu beobachten. Dann waren allerdings die Einstülpungen nicht immer bläschenartig, sondern kalottenförmig. Im Zusammenhang mit später zu beschreibenden Befunden (Versuch 5) deuten wir diese Erscheinung als Folge einer *Vakuolenkontraktion.* Da die äußere Plasmahaut eine starke Viscositätserhöhung, ja Erstarrung erfahren hat, ohne daß der Protoplast abstirbt (Konkav-Plasmolyse

in 0,1 Mol LiCl nach 7 Tagen!), kann sie dem Verkleinerungsbestreben der Vakuole nicht mehr allseitig folgen. Statt dessen löst sich an Orten des geringsten Widerstandes der Tonoplast oder das Binnenplasma von den festeren Außenschichten ab, es wird Vorraumflüssigkeit in den entstehenden Hohlraum eingesaugt, und dieser rundet sich gleichmäßig ab.

Versuch 2b. Der Versuch 2a wurde mit folgender Variation wiederholt: Sämtliche Schnitte wurden nach Abspülen in doppelt destilliertem Wasser erst 12 Std in einer reinen Rohrzuckerlösung vom osmotischen Wert 21 Atm. vorplasmolysiert und dann erst in die entsprechenden Kombinationslösungen eingetragen. Das Ergebnis stimmte völlig überein mit dem des Versuches 2a, nur lagen die Maxima jeweils etwas höher. Trägt man die log dieser Werte gegen die Li-Konzentration auf (Abb. 3, Linie b), so liegen auch sie auf einer Geraden. Dabei verdient die strenge Parallelität zu der Geraden des Versuchs 2a besonders hervorgehoben zu werden; sie bestätigt die Zuverlässigkeit des zuerst erhobenen Befundes.

Der Versuch 2a wurde noch viermal, der Versuch 2b noch zweimal wiederholt, jedesmal mit dem gleichen Ergebnis.

Versuch 3a, b, c. Um die in den vorhergehenden Versuchen erkannte Abhängigkeit der Plasmaaufquellung vom osmotischen Wert der Außenlösung schärfer zu fassen, war es notwendig, bei der Variation der Versuchslösungen die Konzentration eines der beiden kombinierten Stoffe konstant zu halten, d. h. die Wirkung *gleicher* Li-Konzentrationen bei *verschiedenem* osmotischem Wert der plasmolysierenden Lösung zu ermitteln. Hierzu haben wir mit 0,6 (Versuch 3a), 0,4 (Versuch 3b) und 0,2 Mol LiCl (Versuch 3c) gearbeitet und den osmotischen Wert dieser Lösung durch Rohrzuckerzusatz verschieden stark erhöht. Die im einzelnen verwendeten Lösungen, deren osmotische Werte (in Atmosphären) und die Aufquellungsgrade sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Da wir zum Teil mit sehr hochkonzentrierten Lösungen arbeiten mußten, wurden die Schnitte für die höheren Konzentrationen stufenweise in reinen Rohrzuckerlösungen vorplasmolysiert (0,4, 0,8 und 1 Mol Rohrzucker, Aufenthalt in jeder Stufe 10 min).

Tabelle 1. *Aufquellung des Cytoplasmas durch 0,2—0,6 Mol LiCl-Lösung in Abhängigkeit vom gesamten osmotischen Wert der Lösung.*

Rohrzucker-Zusatz	0,2 Mol LiCl (Versuch 3c)		0,4 Mol LiCl (Versuch 3b)		0,6 Mol LiCl (Versuch 3a)	
	Gesamter osmotischer Wert in Atm.	Cytoplasmaaufquellung in Vol.-%	Gesamter osmotischer Wert in Atm.	Cytoplasmaaufquellung in Vol.-%	Gesamter osmotischer Wert in Atm.	Cytoplasmaaufquellung in Vol.-%
0	8,4	—	16,6	10,4	25,7	8,2
0,2 Mol (=5,3 Atm.)	13,7	11,8	21,9	6,4	31,0	5,2
0,4 Mol (=11,1 Atm.)	19,5	1,7	27,7	3,5	36,8	3,8
0,6 Mol (=17,8 Atm.)	26,2	(0,5)	34,4	2,2	43,5	3,3
0,8 Mol (=25,5 Atm.)	33,9	(0,5)	42,1	0,8	—	—

Es würde zu weit führen, die ausführlichen Einzelprotokolle der Versuche wiederzugeben; ebenso soll auf die graphische Darstellung der zeitlichen Abläufe eines jeden Versuches verzichtet werden, denn diese bestätigen lediglich ebenso wie die je dreimaligen Wiederholungen mit großer Regelmäßigkeit das aus Versuch 2a bekannte Bild. Uns interessieren hier vielmehr die Maximalwerte der Aufquellung, wie sie in jeder Lösung, unabhängig vom Zeitpunkt, erreicht werden. Gegen den gesamten osmotischen Wert der Lösungen aufgetragen, ergibt sich das in Abb. 5 dargestellte Bild. Es ist wie folgt zu interpretieren: 1. Die aus

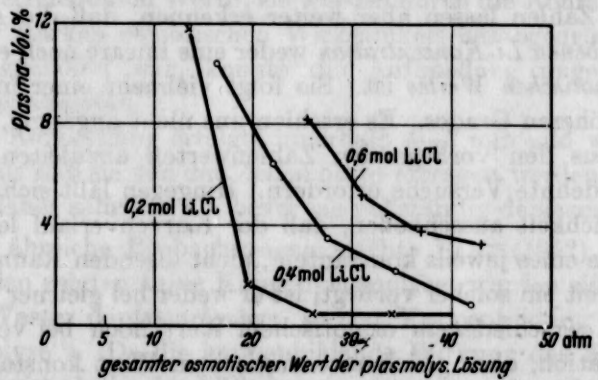


Abb. 5. Abhängigkeit der maximalen Aufquellungsgrade des Cytoplasmas von der LiCl-Konzentration und dem gesamten osmotischen Wert der Außenlösung. Ordinate: Cytoplasmaaufquellung in Vol.-%, Abszisse: Gesamter osmotischer Wert der Außenlösung. (Zu Versuch 3 a—c.)

Versuch 2 abgeleitete Schlußfolgerung wird bestätigt: Bei *gleichem osmotischem Gesamtwert* der Lösung ist der Aufquellungsgrad um so größer, je höher die Partialkonzentration an LiCl ist.

Als Beispiel seien die bei einem osmotischen Wert der Kombinationslösung von 26 Atm. erhaltenen Zahlen in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2. *Aufquellung des Cytoplasmas in Kombinationslösungen mit einem osmotischen Wert von 26 Atm.* (aus Abb. 4 abgelesen).

Partialkonzentration an LiCl in Mol	0,2	0,4	0,6
Aufquellungsgrad des Cytoplasmas in Vol.-% . . .	0,5	4,2	8

2. Je stärker der gesamte osmotische Wert der Lösung ist, desto schwächer fällt die von einer bestimmten Li-Partialkonzentration erzielte Kappenplasmolyse aus (Tabelle 3).

Tabelle 3. *Aufquellungsgrad in 0,4* Mol *LiCl + Rohrzuckerzusatz.*

Osmotischer Wert der Lösung in Atm.	16,6	21,9	27,7	34,4	42,1
Aufquellungsgrad des Plasmas in Vol.-%	10,4	6,4	3,5	2,2	0,8

Stärkere Hypertonie behindert also die Kappenplasmolyse.

Dieser Zusammenhang läßt sich auch anders formulieren: Die hinderliche Hypertonie der Lösung kann durch höhere Lithiumkonzentrationen kompensiert werden. Um einen Aufquellungsgrad von etwa 3,5 Vol.-% zu erreichen, kommt man bei einem osmotischen Wert der Lösung von 18,5 Atm. mit 0,2 Mol LiCl aus, bei 27,5 Atm. benötigt man bereits 0,4 Mol. Li und bei 43 Atm. sogar 0,6 Mol Li. Die entsprechenden Zahlen für einen Aufquellungsgrad von 8 Vol.-% sind bei 15 Atm. 0,2 Mol Li, bei 20 Atm. 0,4 Mol Li und bei 26 Atm. 0,6 Mol Li.

3. Diese Zahlen lassen aber weiter erkennen, daß die Aufquellung *bei einer gegebenen Li-Konzentration* weder eine lineare noch eine *e*-Funktion des *osmotischen Wertes* ist. Sie folgt vielmehr einer unbekannten Gleichung höheren Grades. Es erschien uns nicht angängig, eine solche Gleichung aus den vorliegenden Zahlenwerten abzuleiten; das wird weiter ausgedehnte Versuche erfordern. Hingegen läßt sich mit großer Wahrscheinlichkeit ausschließen, daß der Kurvenverlauf lediglich mit der Annahme eines jeweils konstanten „nicht lösenden Raumes" erklärbar ist. Soweit ein solcher vorliegt, ist er weder bei gleicher Li-Konzentration und verschiedenem osmotischem Wert noch bei verschiedener Li-Konzentration, aber gleichem osmotischem Wert konstant.

4. Die Plasmaaufquellung durch LiCl und die Behinderung durch den osmotischen Wert folgen also zwei *verschiedenen* Abhängigkeitsbeziehungen.

Versuch 4. Das Ergebnis der vorstehenden Versuche, wonach die Aufquellung des Cytoplasmas durch Lösungen hoher osmotischer Werte weitgehend unterdrückt, wenn nicht gar verhindert werden kann, ließ es möglich erscheinen, daß *mechanischer* Druck die Kappenplasmolyse gleichfalls behindert bzw. rückgängig macht. Zur Klärung dieser Frage wurden die nun folgenden Versuche ausgeführt. Ihr Prinzip war es, Zellen mit Kappenplasmolyse zu deplasmolysieren und das Verhalten der Kappen zu prüfen, wenn diese unter dem Druck der sich ausdehnenden Vakuole gegen die Zellwand gepreßt werden. Zu diesem Zwecke ließen wir (4a) Schnitte, deren Zellen mit einer Kombinationslösung LiCl + Rohrzucker vorplasmolysiert und zur Kappenbildung veranlaßt worden waren, in schwach hypertonischer LiCl-Lösung deplasmolysieren; bei gleichbleibender LiCl-Konzentration wurde also der osmotische Wert der Lösung herabgesetzt. In 4b gelangten Parallelschnitte in reines destilliertes Wasser, so daß hier sowohl die Rohrzucker- *als auch die LiCl-Wirkung* wegfiel.

Versuch 4a, Protokoll. Material wie in Versuch 1. 21. 9. 49, 17^{40} Uhr. Nach Abspülen in Wasser in 0,69 Mol Rohrzuckerlösung (21 Atm.) übertragen. Am 22. 9., 8^{45} Uhr in 0,2 Mol LiCl + 0,45 Mol Rohrzucker (zusammen 21 Atm.). Am 24. 9., 11 Uhr, d. h. nach 72 Std Vorbehandlung, zeigten alle Zellen klare, mäßig

starke Kappen von durchschnittlich 4—5 Vol.-%. Anschließend wurden die Schnitte in reinem 0,2 Mol LiCl (etwa isotonisch, osmotischer Wert 8,4 Atm.) zur Deplasmolyse veranlaßt. Es wird also bei gleichbleibender Lithiumkonzentration der osmotische Wert von 21 auf 8,4 Atm. herabgesetzt.

Ergebnis: Unmittelbar nach der Übertragung wachsen die Kappen stark an, wobei sie völlig regelmäßig hyalin bleiben. Es werden Kappenplasmolysegrade von 12—15% erreicht. Das bestätigt zunächst unsere Folgerung aus Versuch 3: Die in der kombinierten Lösung LiCl + Rohrzucker erzielten Plasmolysegrade waren nicht die mit 0,2 Mol LiCl maximal erreichbaren Werte; sie wurden durch die Rohrzuckerunterlage mit ihrer starken osmotischen Wirksamkeit herabgedrückt. Nachdem diese weggefallen war, konnte die Aufquellung ungestört bis zum Maximum ablaufen.

Diese Aufquellung erfolgte innerhalb 4—7 min und war offenbar zu schnell, als daß sie von den Zellen hätte ertragen werden können. Diese starben daher sämtlich ab, bevor sie vollständig deplasmolysiert waren.

Ganz ähnliche Beobachtungen machte Lanz (1942). KNO_3-behandelte Zellen zeigten keine Kappenplasmolyse; wurden sie aber in destilliertem Wasser deplasmolysiert, so trat Kappenbildung auf („Kappendeplasmolyse"). Da die kappenbildende Wirkung des KNO_3 allgemein schwächer ist als die des LiCl, kann vermutet werden, daß sie sich gegen den eigenen osmotischen Wert nicht entfalten kann; ist die Außenlösung nicht mehr hypertonisch, aber noch genügend KNO_3 im Plasma vorhanden, so wird Kappenbildung möglich. Sehr bemerkenswert ist, daß analoge „Kappendeplasmolysen" sogar mit $Ca(NO_3)_2$ + Neutralrot erzielt werden können, mit einem „entquellenden" Salz also.

Versuch 4b. Ein Parallelschnitt wurde aus 0,2 Mol LiCl + 0,45 Mol Rohrzucker direkt in doppelt destilliertes Wasser übertragen (11^{40} Uhr).

Ergebnis. Zuerst setzt ein langsamer Plasmolyserückgang ein. Unmittelbar danach quellen die Kappen etwas auf, jedoch *wesentlich weniger stark* als im vorigen Versuch. Offenbar erfolgt etwa gleichzeitig mit der Deplasmolyse ein Auswaschen des LiCl, so daß die Li-Konzentration im Binnenplasma und damit der mögliche Aufquellungsgrad fortlaufend geringer wird. Der Wegfall der Rohrzuckerunterlage hat also nicht so katastrophale Folgen wie in 4a, wo die LiCl-Konzentration unverändert blieb; die Zellen können hier die Deplasmolyse vollenden. Nach etwa 15 min erreichen die Kappen die Zellwand und legen sich ihr an. Da die Vakuole völlig rund bleibt, füllt das Plasma die Zwickel zwischen Vakuole und Zellwand aus; das Bild ist von dem einer normalen Vakuolenkontraktion nicht zu unterscheiden. Aber die Deplasmolyse schreitet noch weiter fort, die Vakuole nimmt weiter Wasser auf, und das Cytoplasma wird immer mehr zusammengepreßt. Dabei strömt es nicht etwa von den Zwickeln nach den Längsseiten der Zelle ab, um sich

gleichmäßig um die Vakuole zu verteilen, sondern strömt im Gegenteil in die Zwickel hinein (s. Abb. 6). Das Endstadium zeigt eine völlig normal deplasmolysierte Zelle, in der kein Plasma sichtbar ist. Das Zusammenpressen des Plasmas erfordert etwa 5 min. Ein nach 1 Std durchgeführter erneuter Plasmolyseversuch in Rohrzucker läßt zwar die Mehrzahl der Zellen absterben, zeigt aber in den überlebenden normale Plasmolysebilder.

Hieraus muß man folgern, daß das aufgequollene Cytoplasma auch durch *mechanischen Druck* auf sein ursprüngliches Volumen

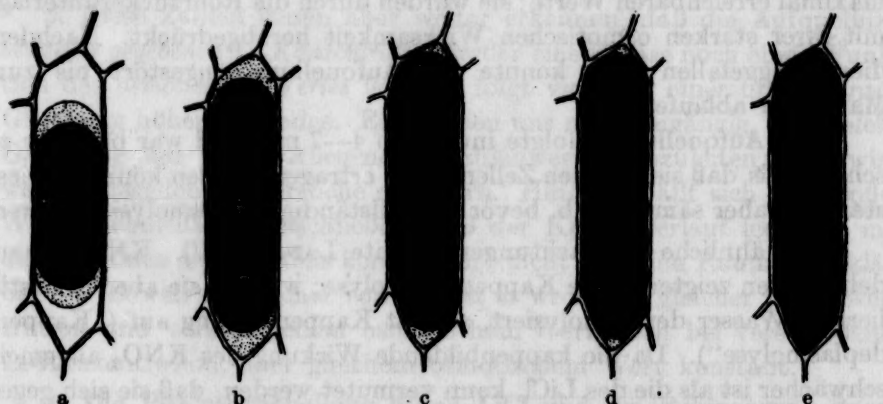


Abb. 6a—e. Deplasmolyseverlauf in einer Zelle mit Kappenplasmolyse nach Übertragung aus 0,2 Mol LiCl + 0,45 Mol Rohrzucker in doppelt destilliertes Wasser. a Versuchsbeginn, b nach 14 min, c nach 16 min, d nach 18 min und e nach 20 min. (Zu Versuch 4 b.)

zusammengepreßt bzw. die Reversion der Kappenplasmolyse erheblich beschleunigt werden kann.

Das hier geschilderte Verhalten ist beschränkt auf Zellen, die sich höchstens 3 Tage in der Li-Lösung befanden. Nach 4 und mehr Tagen können vereinzelt andere Erscheinungen beobachtet werden.

Versuch 5. Versuch 5 ist ebenfalls ein Plasmolyseversuch, nur wurde hier die Deplasmolyse erst nach 96stündiger Vorbehandlung durchgeführt, a) in reinem doppelt destilliertem Wasser, b) durch Übertragung in reine Rohrzuckerlösung, d. h. unter Wegfall des krampferzeugenden LiCl.

Protokoll eines derartigen Versuches. 19. 9. 49, Material wie im Versuch 1, 17^{30} Uhr in 0,4 Mol Rohrzucker, 17^{40} Uhr in 0,56 Mol Rohrzucker, 20. 9., 9^{35} Uhr in 0,4 Mol LiCl + 0,2 Mol Rohrzucker.

5a. 23. 9. Schnitt 1 in doppelt destilliertes Wasser übertragen. Die meisten Zellen sterben sehr schnell ab. Dabei koaguliert das Kappenplasma schlagartig. Die überlebenden Zellen deplasmolysieren nicht oder nur sehr langsam. Meist bleibt der äußere Kappenmeniskus unverändert stehen. Die Vakuole dagegen dehnt sich innerhalb 5—8 sec aus auf Kosten des Kappenplasmas: dieses gibt sein Wasser an die

Vakuole ab und entquillt bis zu seinem normalen Volumen. Bemerkenswerterweise können die beiden Kappen einer Zelle *nacheinander* entquellen. Nach beendeter Entquellung erfolgt meist keine weitere Ausdehnung des nunmehr normal aussehenden Protoplasten.

Hierbei handelt es sich offenbar um einen der Vakuolenkontraktion entgegengesetzten Vorgang, denn jetzt dehnt sich die Vakuole auf Kosten des Plasmas aus; die Vermutung liegt nahe, daß in solchen Fällen eine Vakuolenkontraktion vorausgegangen ist und nunmehr, nach wenigstens partieller Entfernung des auslösenden Agens (LiCl), wieder rückgängig gemacht wird. Danach könnte aber die Entstehung der Kappenplasmolyse mit einer Vakuolenkontraktion wenigstens gekoppelt sein. Hierfür haben wir bereits in Versuch 2 Anhaltspunkte gewonnen; weitere wurden aus Versuch 7 (s. unten) erhalten.

5b. Parallelschnitte zu 5a 11. 10. aus 0,4 Mol LiCl + 0,2 Mol Rohrzucker nicht in doppelt destilliertes Wasser, sondern in reine 0,2 Mol Rohrzuckerlösung übertragen.

Etwa 75% der Zellen starben innerhalb 25 min ab; die überlebenden verhalten sich wie in Versuch 5a und zeigen klare, einfache Menisken ohne Kappenplasmolyse. Keine Deplasmolyse. In einem Falle wurde jedoch beobachtet, daß der Farbstoff aus der Vakuole in die Kappen übertrat. Diese waren nunmehr violettrot gefärbt, blieben aber als Kappen erhalten und deutlich sichtbar. Hier hat offenbar das aufgequollene Cytoplasma sein Wasser nicht an die Vakuole abgegeben; dagegen war der Tonoplast gerissen, und der Vakuoleninhalt hatte sich in das Cytoplasma ergossen.

Den Versuchen 5a und b ist gemeinsam, daß die Zellen nicht mehr zu deplasmolysieren vermögen. Hierfür kann wenigstens in vielen Fällen eine Erstarrung der äußeren Plasmahaut infolge zu langen Verweilens in der LiCl-Lösung verantwortlich gemacht werden. Diese Erstarrung ist so erheblich, daß sie im allgemeinen dem osmotisch erzeugten Überdruck der Vakuole standzuhalten vermag. Mehrfach aber konnte beobachtet werden, daß an einer oder mehreren Stellen der Kappenoberfläche bruchsackartige Plasmamassen austraten. Diese runden sich ab und enthalten im Inneren rotgefärbte Vakuolen, die mit der Zentralvakuole in Verbindung stehen. Durch die Oberfläche der Bruchsäcke konnte eine Aufnahme von Wasser in die Vakuole unter Ausdehnung der ausgetretenen Partien des Protoplasten erfolgen. Sehr bald aber wurde die Deformierung zu groß, und das Cytoplasma der Vorwölbung koagulierte plötzlich.

Als Hauptergebnis der Versuche 4 und 5 ist festzuhalten, daß es in der Tat möglich ist, das aufgequollene „Kappenplasma" zu entquellen, wenn es durch mechanischen Druck der sich wieder ausdehnenden Vakuole an die Zellwand gepreßt wird. Ferner kann die Kappenplasmolyse

aufgehoben werden, wenn beim Übertragen in reines Wasser oder Rohrzuckerlösung eine „Vakuolenexpansion" (d. h. eine umgekehrte Vakuolenkontraktion) einsetzt. Dann gelangt das Hydratationswasser des Cytoplasmas quantitativ in die Vakuole. Dabei bleibt es zunächst ungeklärt, ob das „Saugvermögen" des Zellsaftes plötzlich zunimmt, oder ob das Wasserbindungsvermögen des Cytoplasmas wieder auf seinen ursprünglichen Wert herabgesetzt wird. Es wird jedoch dadurch erneut eine Beziehung zwischen Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion sichtbar. Ihr soll in den folgenden Versuchen nachgegangen werden.

2. Reihe: Vakuolenkontraktion mit LiCl, Unterepidermis.

Versuch 3 hatte ergeben, daß in kombinierten Lösungen von 0,2 Mol LiCl + Rohrzucker verschiedener Konzentration beträchtliche Kappenplasmolyse-Grade erzielt werden können. Nun ist aber 0,2 Mol LiCl-Lösung etwa isotonisch oder zum Teil schwach hypertonisch; sie wird erst durch Rohrzuckerzusatz hypertonisch. Wenn daher die Aufquellung des Cytoplasmas bei Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion nach verwandten Mechanismen erfolgt, so muß man durch hypertonische LiCl-Lösung Vakuolenkontraktion erzwingen können. In Versuch 6 haben wir daher mit 0,1 Mol LiCl (4,2 Atm.), 0,2 Mol LiCl (8,4 Atm.) und 0,2 Mol LiCl + 0,3 Mol Rohrzucker (8,4 + 8,4 Atm. = 16,8 Atm.) gearbeitet.

Versuch 6. Protokoll. Material wie in Versuch 1. 27. 9. 49, 17^{40} Uhr. Schnitte ohne Vorbehandlung (nach Abspülen mit Wasser) in 0,1 bzw. 0,2 Mol LiCl bzw. 0,2 Mol LiCl + 0,3 Mol Rohrzucker.

In den beiden hypertonischen Lösungen traten nach 2—3 Std die ersten Vakuolenkontraktionen auf, während in der hypertonischen Kombinationslösung lediglich Plasmolyse, aber keine Kappenplasmolyse zu sehen war.

28. 9.; 10^{05} Uhr; in 0,1 und 0,2 Mol LiCl starke Vakuolenkontraktion; in den mit Plasma ausgefüllten Zellecken lebhafte BMB. In 0,2 Mol LiCl + 0,3 Mol Rohrzucker begann die Kappenplasmolyse erst am 28. 9. um 18^{30}, d. h. nach 24 Std. Nach weiteren 3 Tagen war die Vakuolenkontraktion noch erheblich stärker geworden, ebenso die Kappenplasmolyse. Erst am 1. 10., also nach 4 Tagen, konnte in 0,1 Mol LiCl ein Rückgang der Vakuolenkontraktion beobachtet werden, der erst am 3. 10. perfekt war. In 0,2 Mol LiCl war auch am 3. 10. noch deutlich Vakuolenkontraktion zu sehen.

Plasmolysiert man eine solche Zelle mit Vakuolenkontraktion, so löst sich das gequollene Plasma nicht von der Wand ab, sondern bleibt hängen, folgt zugleich der sich verkleinernden Vakuole und wird dadurch in Fetzen gerissen. Damit unterschieden sich unsere Zellen beispielsweise von denen des Fruchtfleisches von *Ligustrum*, bei welchen HENNER (1934) schöne Konvexplasmolyse beobachten konnte.

Das Ergebnis bestätigt den Befund Höflers (1928), wonach kappenplasmolyseerzeugende Salze in hypotonischen Lösungen Vakuolenkontraktion hervorrufen. (Eine auffällige Ausnahme macht nach Strugger das KCNS, 1932.) Darüber hinaus aber kann man mit der *gleichen* hypotonischen Li-Konzentration, die (in der Unterepidermis der Zwiebelschuppen) kräftige Vakuolenkontraktion bewirkt, Kappenplasmolyse erreichen, wenn man sie durch Rohrzuckerzusatz hypertonisch macht. Die Plasmaaufquellung bei Vakuolenkontraktion und Kappenplasmolyse wird also durch den gleichen Stoff in der *gleichen Konzentration* verursacht.

Schließlich soll noch auf das verspätete Eintreten der Kappenplasmolyse gegenüber der Vakuolenkontraktion hingewiesen werden: letztere ist schon nach 2—4 Std, erstere frühestens nach 24 Std zu beobachten; vermutlich wird die Aufhellung durch die Hypertonie der Lösung auch *zeitlich verzögert*.

3. Reihe: Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion mit Neutralrot, Oberepidermis.

Die vorstehend beschriebenen Versuche hatten als wichtigstes ergeben, daß es in der Hand des Experimentators liegt, mit dem gleichen auslösenden Agens — hier LiCl — Kappenplasmolyse oder Vakuolenkontraktion nach Belieben zu erzwingen: je nach dem osmotischen Wert der Lösung tritt in hypertonischen Medien Kappenplasmolyse, in hypotonischen Medien Vakuolenkontraktion auf. Da man in der Regel die Vakuolenkontraktion als eine Reizreaktion aufzufassen geneigt ist, liegt es nahe, das gleiche auch für die Kappenplasmolyse anzunehmen — wozu ja die in den Versuchen 1 und 2 nachgewiesene Reversibilität eine Stütze darstellen könnte. Solange diese Ansicht sich lediglich auf Versuche mit LiCl gründet, ist ihre Gültigkeit nur sehr begrenzt und kann zudem unter Hinweis auf die „quellende" Wirkung des LiCl bezweifelt werden. Es war daher geboten, die aufgedeckten Zusammenhänge zwischen Vakuolenkontraktion und Kappenplasmolyse anderweitig zu bestätigen. Hierzu schienen Versuche mit Neutralrot geeignet. Wie bereits seit langem bekannt (Küster 1928), bewirkt Neutralrot unter bestimmten Bedingungen eine Vakuolenkontraktion. Eine solche ist z. B. leicht an der Oberepidermis der Zwiebelschuppen zu beobachten, wenn man den p_H-Wert der Farblösung etwas unterhalb des Neutralpunktes hält, etwa durch Verwendung von Leitungswasser oder Pufferlösungen. Wenn unsere Ansicht richtig ist, so muß es gelingen, durch Zusatz von Rohrzucker zur Farblösung die nunmehr plasmolysierten Zellen zur Ausbildung von Kappen zu veranlassen. Zur Prüfung diente

Versuch 7. 3. 10. 49. *Allium Cepa* (italienische Handelssorte, anthocyanhaltig). 3. Schuppe von außen. Schnitte aus der Mittelregion. Schnittanfertigung *ohne*

Entlüftung. Lösungen: a) Neutralrot 10^{-4} g/cm³ in Göttinger Leitungswasser, b) Neutralrot 10^{-4} + 0,6 Mol Rohrzucker in Göttinger Leitungswasser. Die Lösungen wurden durch Verdünnen einer frisch angesetzten Stammlösung 10^{-3} unter Beachtung der üblichen Vorschriften (vgl. STRUGGER 1949) hergestellt.

12^{45} Uhr gelangten die Schnitte nach kurzem Abspülen in doppelt destilliertem Wasser in die Lösungen a (und b).

17^{00} Uhr zeigten die Zellen der Schnitte in beiden Lösungen schöne Vakuolenfärbung. In reinem Neutralrot war regelmäßig schwache Vakuolenkontraktion zu beobachten, in Neutralrot + Rohrzucker waren die Zellen konvex plasmolysiert; vereinzelt wurden (große) Kappen festgestellt.

4. 10. 10^{10} Uhr war die Vakuolenkontraktion fast vollständig zurückgegangen, die plasmolysierten Schnitte dagegen zeigten in etwa 50% der Zellen geringe, aber deutliche Kappenplasmolyse. Die Aufquellungsgrade waren im Mittel 3,9% (30 Einzelwerte).

Es ist nun allerdings möglich, daß in den mit Neutralrot + Rohrzucker behandelten Schnitten Vakuolenkontraktion eintrat, bevor die Plasmolyse begann. Dann würden die Kappen lediglich durch das bei der *Vakuolenkontraktion aufgequollene* Plasma dargestellt und dürften gar nicht als echte Kappen, d. h. als gequollenes Plasma *plasmolysierter* Zellen gewertet werden. Um diese Möglichkeit auszuschließen, wurde der Versuch derart wiederholt, daß die zu plasmolysierenden Schnitte zunächst mit reiner 0,6 Mol Rohrzuckerlösung vorplasmolysiert und *erst nach perfekter Plasmolyse* in die Kombination Rohrzucker + Neutralrot übertragen wurde. Das Ergebnis war das gleiche. Damit dürfte bewiesen sein, daß Neutralrot, dem man wohl keine „quellende" Wirkung zuschreiben wird, ebenso Kappenplasmolyse hervorrufen kann, wie es Vakuolenkontraktion auslöst.

Das Ergebnis der Versuche befriedigt indessen wenig, weil die erzielten Aufquellungsgrade mit 3,9% (Maximalwert 5,9%) recht gering sind und in keinem rechten Verhältnis zu der oft beobachteten Stärke der Vakuolenkontraktion stehen. Zwar müssen wir annehmen, daß auch bei Neutralrot der hohe osmotische Wert der Rohrzuckerunterlage die Kappenplasmolyse behindert; trotzdem hatten wir ursprünglich höhere Werte erwartet. Nun ist aber das Göttinger Leitungswasser außergewöhnlich Ca-reich. Und da wir aus den Untersuchungen HÖFLERS (1939) und HOUSKAS (1941) wissen, daß bereits eingetretene Kappenplasmolyse in $CaCl_2$-Lösung zurückgeht, glaubten wir das Ausbleiben großer Aufquellungsgrade auf die hohe Ca-Konzentration zurückführen zu müssen. In Versuch 8 haben wir daher nicht mehr mit Leitungswasser als Medium gearbeitet, sondern mit doppelt destilliertem Wasser, das durch Phosphatpuffer auf den p_H-Wert 7,2 gebracht wurde (nach STRUGGER 1949).

Versuch 8. Material wie in Versuch 7, d. h. Oberepidermis, ungefärbt. Lösungen: a) Neutralrot 10^{-4} g/cm³ in doppelt destilliertem Wasser, Phosphatpuffer p_H 7,2; b) Neutralrot 10^{-4} + Rohrzucker 0,6 Mol in doppelt destilliertem Wasser, gleich gepuffert. Zur Vorplasmolyse wurde ferner reine 0,6 Mol Rohrzuckerlösung in doppelt destilliertem Wasser verwendet, ebenfalls auf p_H 7,2 gepuffert (c).

7. 10. 40, 10^{45} Uhr: Je 3 Schnitte nach Abspülen in doppelt destilliertem Wasser in Lösung a—c. 11^{20} Uhr wurden die Schnitte aus dem Vorplasmolytikum ebenfalls in Rohrzucker + Neutralrot eingetragen.

17^{00} Uhr in reinem Neutralrot starke Vakuolenkontraktion, in Neutralrot + Rohrzucker (mit und ohne Vorplasmolyse) hatten einige Zellen extrem starke Kappen (bis 28,4% !). Dabei war das Kappenplasma ungefärbt und völlig hyalin; seine Grenzen gegen den Vorraum konnten nur an einem äußerst schwach sichtbaren Meniskus festgestellt werden, während die Wand stark gequollen und die Vakuolen sehr gleichmäßig gefärbt waren. Die meisten dieser Zellen hatten zudem nur an *einer* Schmalseite eine Kappe ausgebildet, an der anderen nicht. Sämtliche anderen Zellen aber zeigten *Tonoplastenplasmolyse*. Das Plasma selbst war indes kaum sichtbar, auch konnte keine BMB im Raume zwischen Zellwand und Vakuole beobachtet werden. Überträgt man jedoch einen solchen Schnitt in stärker hypertonische Rohrzuckerlösung (1 Mol), so verkleinert sich zunächst die Vakuole, dann denaturiert, koaguliert und zerreißt das gesamte Plasma schlagartig.

Danach müssen wir die vereinzelt beobachteten normalen und „einseitigen" Kappen als Kappenplasmolyse ansehen, die aus unbekannten Gründen „stehengeblieben" sind, bevor sie die Zellwand erreichten.

Berechnet man den Volumanteil des aufgequollenen Plasmas, so gelangt man zu Durchschnittswerten von 32%, zu höheren Werten also, als jemals mit LiCl an der Unterepidermis erreicht werden konnten. Dabei sind diese Werte offensichtlich noch nicht die maximalen, da das Aufquellungsbestreben des Cytoplasmas durch die Zellwand mechanisch begrenzt wird.

Die Zellen, deren Plasma innerhalb ganz kurzer Zeit so außerordentlich stark aufgequollen ist, starben schon nach 1—2 Tagen ab; eine Reversibilität der Erscheinung konnte daher nicht beobachtet werden. Ein Platzen der Kerne, wie es bei Tonoplastenplasmolyse mit KSCN häufig auftritt (Strugger 1932), ereignet sich nur selten. — Die Versuche wurden insgesamt 8mal mit durchaus gleichen Erfolgen wiederholt.

Der Ausfall der Versuche ist in verschiedener Hinsicht bemerkenswert:

1. Der für die LiCl-Wirkung an der Unterepidermis ermittelte Zusammenhang zwischen Vakuolenkontraktion und Kappenplasmolyse wird durch die Neutralrotversuche an der Oberepidermis vollauf bestätigt. Neutralrot, das in den üblicherweise verwendeten hypotonischen Lösungen Vakuolenkontraktion auslöst, bewirkt bei mit Rohrzucker plasmolysierten Zellen Kappenplasmolyse. Dabei sind die Aufquellungsgrade in Neutralrot erheblich höher als im LiCl.

2. Das Neutralrot färbt unter den gewählten Bedingungen hauptsächlich die Vakuole an und ist daher im Binnenplasma nur in recht

niedriger Konzentration vorhanden. Angesichts der Parallelität der „Neutralrot-Kappen" und der „Lithium-Kappen" darf vermutet werden, daß auch das LiCl gar nicht in so hohen Konzentrationen im Binnenplasma vorliegt, wie das z. B. auf Grund der Analogieschlüsse STRUGGERS (1932) angenommen wird.

D. Ergänzende Versuche.

Die nachstehend beschriebenen Versuche stellen gewissermaßen die Umkehrung der vorigen dar: in ihnen sollte überprüft werden, ob in der Unterepidermis, die bisher ausschließlich mit LiCl behandelt wurde, auch durch Neutralrot Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion erzeugt werden kann, und entsprechend in der Oberepidermis nicht nur mit Neutralrot, sondern auch mit LiCl. Da diese Versuche nicht mehr streng in den Rahmen unserer auf die Analyse der osmotischen Bedingungen gerichteten Untersuchungen gehören, kann auf eine Wiedergabe des Zahlenmaterials verzichtet werden.

Das Ergebnis läßt sich wie folgt zusammenfassen: Auch in der Oberepidermis löst LiCl Vakuolenkontraktion (hypotonisch) bzw. Kappenplasmolyse (hypertonisch) aus. Die Aufquellungsgrade sind durchweg höher als die in der Unterepidermis; sie liegen nahe den durch Neutralrot an der Oberepidermis erhaltenen. Auch treten beide Reaktionen schneller ein als in der Unterepidermis; eine Reversibilität kann — wie im Neutralrot — nur selten beobachtet werden.

Entsprechend verliefen die Neutralrotversuche in der Unterepidermis: auch hier tritt reversibel Vakuolenkontraktion bzw. Kappenplasmolyse auf, aber später und schwächer als in der Oberepidermis, etwa in den gleichen Zeiträumen und Ausmaßen wie bei LiCl in der Unterepidermis.

Damit sind aber auch die noch bestehenden Unterschiede in der Wirkung von LiCl und Neutralrot auf physiologische Differenzen zwischen den Zellen der Ober- und Unterepidermis zurückgeführt. Die langsamere und schwächere Reaktion im Versuch 1 (LiCl/Unterepidermis) gegenüber Versuch 7 und 8 (Neutralrot/Oberepidermis) beruht auf der geringeren Reaktionsbereitschaft der Zellen der Unterepidermis, nicht auf einer stärkeren Wirkung des Neutralrots. Die Zellen der Oberepidermis reagieren sowohl auf LiCl als auch auf Neutralrot schnell und kräftig, die der Unterepidermis dagegen langsamer und schwächer.

4. Besprechung der Ergebnisse.

Die in den Arbeiten von HÖFLER und STRUGGER, aber auch von HENNER, KEIL, HARTMAIR, HOUSKA u. a. entwickelten Kausalvorstellungen über Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion lassen sich in Kürze etwa folgendermaßen umreißen:

Vakuolenkontraktion und Kappenplasmolyse kommen auf verschiedene Weise zustande. Die *Vakuolenkontraktion* ist, wie auch die Reizplasmolyse, eine *Reizreaktion*. Das Plasma wird als der aktive Teil, seine Aufquellung als das charakteristische Merkmal angesprochen, doch besagt schon der Name, daß auch die Vakuole eine Rolle spielt. Sie gibt nämlich diejenige Menge Wassers ab, die das Cytoplasma unter sichtbarer Volumvergrößerung aufnimmt. Diese „Wasserverschiebung" wird durch mehrere Agenzien ausgelöst, die offenbar keine „quellende" Wirkung haben: Verwundung, Neutralrot, Leitungswasser, natürliche Alterungsvorgänge u. a. m. sowie durch Alkalisalze. Auf welche Weise die Wasserverschiebung zustande kommt, ist noch strittig. Die *Volumverkleinerung der Vakuole* wurde mehrfach auf Exosmose von osmotisch wirksamen Substanzen aus dem Zellsaft zurückgeführt (Henner 1934, Hartmair 1938), d. h. auf Permeabilitätserhöhung. Diese Hypothese ist offenbar unzureichend, denn sie vermag in keiner Weise das verstärkte *Wasserbindungsvermögen des Cytoplasmas* zu erklären. Zudem konnte Hartmair (1938) an *Helodea* keine Permeabilitätsunterschiede zwischen normalen Zellen und solchen mit Vakuolenkontraktion feststellen.

Die *Synärese des Zellsaftes* von Boragineen- und Ranunculaceen-Korollzellen wird als spontane oder „reizartige" Entmischung der Vakuolenkolloide gedeutet. (Da hier das „freiwerdende" Wasser meist in der Vakuole verbleibt, ist das Cytoplasma anscheinend nicht beteiligt.)

Die *Kappenplasmolyse* hingegen wird nicht als Reizreaktion aufgefaßt. Da sie bisher hauptsächlich in „quellenden" Alkalisalzlösungen beobachtet wurde, sieht man die primäre Ursache in einer Intrabilitätserhöhung bei gleichzeitiger Permeabilitätsherabsetzung. Somit würde das Binnenplasma von Ionen überschwemmt und durch diese Ionen direkt aufgequollen werden.

Um unsere eigenen Befunde hiermit vergleichen zu können, seien die wichtigsten davon — in etwas veränderter Reihenfolge — nochmals aufgeführt.

1. Kappenplasmolyse kann sowohl durch LiCl als auch durch Neutralrot ausgelöst werden. Voraussetzung hierzu ist die Verwendung hypertonischer Lösungen (z. B. unter Rohrzuckerzusatz).

2. Die durch LiCl erzeugte Kappenplasmolyse ist ohne Mediumwechsel reversibel, d. h. sie geht in der gleichen Lösung zurück, in der sie entstanden ist.

3. Der Aufquellungsgrad des Cytoplasmas folgt einer logarithmischen Funktion der LiCl-Partialkonzentration der Außenlösung, jedoch nur, wenn die zu vergleichenden Lösungen isotonisch sind.

4. Die Aufquellung des Cytoplasmas wird behindert, wenn der osmotische Wert der Außenlösung, z. B. durch Rohrzuckerzusatz, zusätzlich erhöht wird.

5. Die Aufquellung kann durch mechanischen Druck verhindert bzw. rückgängig gemacht werden.

6. Vakuolenkontraktion kann gleichfalls durch LiCl wie durch Neutralrot ausgelöst werden, vorausgesetzt, daß die Lösungen hypotonisch sind. Werden diese Lösungen *bei gleichbleibender* Partialkonzentration an LiCl bzw. Neutralrot mittels Rohrzuckerzusatzes *hypertonisch*, so erhält man dagegen Kappenplasmolyse. Die Entscheidung, ob Vakuolenkontraktion oder Kappenplasmolyse eintritt, wird also nicht durch Konzentration des auslösenden Stoffes, sondern allein durch den osmotischen Wert der Lösung getroffen.

Hiernach scheint uns eine Revision der oben angegebenen Vorstellungen in folgenden Punkten notwendig zu sein:

a) Vakuolenkontraktion und Kappenplasmolyse sind nach (6.) in ätiologischer Hinsicht durchaus ähnlich; es ist nicht mehr möglich, die Vakuolenkontraktion als „Reiz"-Quellung aufzufassen, die Kappenplasmolyse als „Ionen"-Quellung.

b) Eine Intrabilitätserhöhung bei Kappenplasmolyse kann nicht stichhaltig begründet werden.

c) Ebensowenig läßt sich bei Kappenplasmolyse eine Permeabilitätserniedrigung nachweisen; das Schema „Intrabilitätserhöhung/Permeabilitätserniedrigung" ist daher nicht geeignet, die Kappenplasmolyse zu erklären.

d) Die Volumenvergrößernng des Plasmas bei Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion kann nicht als unmittelbare Hydratationssteigerung durch „quellende" Ionen aufgefaßt werden; ihr liegt ein andersartiger Aufquellungsmechanismus zugrunde.

Zu a): *Die Zusammenhänge zwischen Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion.* Bereits 1928 hatte Höfler gezeigt, daß bestimmte Salze, die in hypertonischer Konzentration Kappenplasmolyse auslösen, Vakuolenkontraktion hervorrufen können, wenn sie in hypotonischer Konzentration geboten werden. Damit war eine erste Möglichkeit gegeben, die beiden Phänomene gemeinsam zu behandeln; es blieb jedoch insofern ein Unterschied bestehen, als beide Reaktionen durch stark verschiedene Konzentration eines Stoffes (0,1 bzw. 0,6 Mol) ausgelöst werden und damit verschiedene Mechanismen haben können. Wir haben in unseren Versuchen demgegenüber zwei Stoffe gefunden, die in *gleicher* Konzentration Kappenplasmolyse oder Vakuolenkontraktion auslösen, je nach dem, ob sie hypertonisch oder hypotonisch angewandt werden. Das berechtigt uns nunmehr, für beide Phänomene eine einheitliche Ursache anzunehmen, wenigstens soweit sie durch LiCl und Neutralrot

hervorgerufen werden (s. unten). Es geht also nicht mehr an, die Kappenplasmolyse als direkte Plasmaaufquellung, die Vakuolenkontraktion aber als indirekte „Reiz"-Reaktion aufzufassen. Aus Gründen, die in (d) genauer dargelegt werden (Reversibilität der „Lithium-Kappen", Kappenplasmolyse in Neutralrot usw.), halten wir eine direkte Plasmaaufquellung für nicht möglich, so daß als Deutungsmöglichkeit vorerst nur die Reizreaktion, besser *Auslöse*reaktion, bei Vakuolenkontraktion *und* Kappenplasmolyse verbleibt.

Unter diesem Gesichtspunkt würde man mit Weber (1930) sagen können, die Kappenplasmolyse sei die Vakuolenkontraktion einer plasmolysierten Zelle. So wie bei der Vakuolenkontraktion auf verschiedenartige Anlässe hin das Cytoplasma als der aktive Teil aufquillt, so könnte auch bei der Kappenplasmolyse das Cytoplasma der plasmolysierten Zelle auf verschiedene Stoffe mit einer Aufquellung reagieren.

Dabei ist jedoch zu bemerken, daß sich bei der Vakuolenkontraktion in der Vakuole bestimmte Veränderungen vollziehen, die zu deren Volumverringerung führen.

Aus Versuch 4 hatten wir gesehen, wie unter dem Druck der Vakuole bereits aufgequollenes Plasma wieder entquollen werden kann. Der „Quellungsdruck" des mit LiCl behandelten Plasmas ist offenbar recht gering, da er mechanisch und osmotisch leicht zu überwinden ist. Er dürfte daher in einer turgeszenten Zelle gegen den Druck der Vakuole nicht zu einer nennenswerten Volumvergrößerung des Plasmas führen können. Andererseits zeigt die quantitative Auswertung, daß das Cytoplasma bei der Vakuolenkontraktion in 0,1 Mol LiCl durchschnittlich 8—12, in einigen Fällen sogar 17—20% des Zellvolumens einnehmen kann. Solche hohen Aufquellungsgrade sind nur dann möglich, wenn sich das Volumen der Vakuole seinerseits verkleinert und dadurch den mechanischen Druck auf das Cytoplasma verringert bzw. aufhebt. Die *Vakuolenkontraktion* hat also *zwei* Ursachen: 1. das Cytoplasma erhält die Fähigkeit der Volumvergrößerung, 2. das Volumen der Vakuole wird spontan verkleinert. Beide Erscheinungen müssen augenscheinlich gleichzeitig auftreten, damit sich das Aufquellungsbestreben des Plasmas auch tatsächlich auswirken kann.

Die bei der Vakuolenkontraktion zu beobachtende Volumverkleinerung ist offenbar nichtosmotischer Art. Man hat zwar versucht, sie auf eine Permeabilitätserhöhung und daraus folgende Exosmose von osmotisch wirksamen Substanzen aus dem Zellsaft zurückzuführen (Henner 1934, Hartmair 1938), doch wurde diese Permeabilitätserhöhung jeweils nur indirekt aus eben dieser Volumabnahme erschlossen. Zudem konnte Hartmair bei *Helodea* keine Permeabilitätsunterschiede zwischen normalen Zellen und solchen mit Vakuolenkontraktion feststellen. Endlich würde eine solche Permeabilitätserhöhung

in Widerspruch zu der von Strugger (1932) und Höfler (1928) postulierten und von Kaiserlehner (1939) gefundenen Permeabilitätsherabsetzung bei Kappenplasmolyse (s. unten) stehen. Eine Permeabilitätsänderung dürfte bei Vakuolenkontraktion wie bei Kappenplasmolyse nur als gelegentliche Begleiterscheinung, nicht aber als unerläßliche Ursache gewertet werden. — Auf die Möglichkeit einer nichtosmotischen Volumabnahme der Vakuole wird gleichfalls in (d) näher einzugehen sein.

Bei der *Kappenplasmolyse* hingegen scheint eine spontane (nichtosmotische) Verkleinerung der Vakuole nicht erforderlich zu sein, denn hier wird ja durch die Hypertonie der Außenlösung das Vakuolenvolumen auf rein osmotischem Wege verringert; das Aufquellungsbestreben des Cytoplasmas braucht sich jetzt nicht mehr gegen den (mechanischen) Wanddruck, sondern nur noch gegen die osmotischen Saugkräfte der Außenlösung zu manifestieren. Trotzdem kann auch hier eine „Vakuolenkontraktion", genauer gesagt eine über die osmotisch bewirkte Volumverringerung der Vakuole hinausgehende Kontraktion stattfinden. Hierfür sprechen unter anderem 2 Faktoren: 1. das Auftreten von Einstülpungen in der Vakuole (Versuch 2), 2. die Entquellung der Kappen unter Abgabe ihres zusätzlich erworbenen Quellungswassers an die Vakuole (Versuch 5). Letzteres würde dann die Umkehr der Vakuolenkontraktion darstellen.

Wir können also die Formulierung aufrechterhalten, daß die Kappenplasmolyse die Vakuolenkontraktion einer plasmolysierten Zelle ist, wenn wir dabei die Vorgänge in der Vakuole berücksichtigen.

Es bleibt noch offen, ob diese Formulierung für *jede* Art der Vakuolenkontraktion bzw. Kappenplasmolyse gilt. Es muß beachtet werden, daß Vakuolenkontraktion außer durch „quellende" Salze und Neutralrot auch durch Verwundung, Leitungswasser, Rohrzucker u. a. ausgelöst werden kann, während noch nicht feststeht, ob *alle* diese Faktoren auch Kappenplasmolyse hervorrufen. Immerhin hat Lanz (1942) an mit Rohrzucker vorplasmolysierten *Rhoeo*zellen bei der Deplasmolyse „Kappendeplasmolyse" beobachten können, Höfler (1949) fand bei *Metzgeria* Tonoplastenplasmolyse nach Traubenzuckerbehandlung und Reuter (1949) an *Soja hispida*-Keimblättern ebensolche in hypertonischer Harnstofflösung, und wir selbst haben bei *Allium* auch in reiner Rohrzuckerlösung Kappenbildung auslösen können. Daß in der Nähe des Schnittrandes in geschädigten Zellen spontane Kappenbildung einsetzt, ist ebenfalls seit langem bekannt; die Wahrscheinlichkeit, daß unsere Formulierung einen weiten Geltungsbereich hat, ist damit bereits jetzt ziemlich groß.

Zu b) *Intrabilitätserhöhung.* Wie bereits erwähnt, ist nach der von Höfler und Strugger ausgearbeiteten Theorie der Kappenplasmolyse der erste Angriffspunkt der kappenerzeugenden Salze die

Plasmagrenzschicht. Sie bewirken hier eine Intrabilitätserhöhung für Ionen, die nun ihrerseits das Cytoplasma überschwemmen und es direkt zu einer Aufquellung veranlassen. Demgegenüber muß darauf hingewiesen werden, daß hohe Salzkonzentrationen im Binnenplasma noch niemals *gemessen*, sondern allenfalls indirekt erschlossen worden sind, und daß die Intrabilitätserhöhung ebenso lediglich auf die scheinbar abnorm hohe Binnenkonzentration gegründet wurde.

Im einfachsten Fall scheint hier ein Zirkelschluß vorzuliegen: Man geht von der (erst zu beweisenden!) Annahme aus, das Cytoplasma könne nur in annomal hohen Salzkonzentrationen aufquellen, und folgert aus der tatsächlich beobachteten Aufquellung, daß mithin eine hohe Salzkonzentration vorliege und eine Intrabilitätserhöhung vorausgegangen sein müsse. In einem anderen Fall scheint der Nachweis einer hohen Binnenkonzentration gelungen zu sein: Strugger hatte (1930) an isolierten Kernen und an Kernen angeschnittener Protoplasten die zu Veränderungen des Lichtbrechungsvermögens führenden Desintegrationserscheinungen in ihrer Abhängigkeit von der *Außen*konzentration an KNO_3 studiert. Er erhielt dabei eine überaus klare Optimumkurve, und er glaubte nunmehr umgekehrt aus dem Grad der Dispersitätsänderungen eines Kernes auf die Salzkonzentration in der umgebenden Lösung schließen zu können. Da die oben angegebene Kurve für alle bisher untersuchten Kerne gelten soll, schien damit ein Mittel gegeben, aus der Kernbeschaffenheit die Konzentration bestimmter Salze im *Binnenplasma ganzer Zellen* abzulesen. Strugger bestimmte so die KNO_3-Konzentration im *Kappenplasma* zu mindestens 0,3—0,4 Mol. Uns scheint diese Gleichsetzung von isolierten Kernen Kernen angeschnittener Protoplasten und Kernen lebender Zellen bedenklich. Wir müssen berücksichtigen, daß gerade eine *Dispersitäts*änderung kolloider Systeme mit ganz verschiedenen Mitteln und über ganz verschiedene Mechanismen erreicht werden kann. Hierzu kann auf die Untersuchungen Zollingers (1948) an Hefezellen hingewiesen werden; dieser Autor beobachtete, daß tote Kerne (in hitzegetöteten Zellen) und lebende Kerne (in mit destilliertem Wasser behandelten Zellen) gegenüber dem Normalzustand die *gleiche* Veränderung des Lichtbrechungsvermögens zeigen. Es dürfte daher nicht möglich sein, allein aus dem optischen Verhalten des Kernes die Salzkonzentration im Plasma zu bestimmen, und wir vermögen eine solche indirekte Beweisführung nicht als stichhaltig anzuerkennen[1].

Im übrigen gehen die Meinungen über den Mechanismus und den Zeitpunkt der hypothetischen Intrabilitätserhöhung weit auseinander. Strugger (1932) nimmt an, die pathologische Erscheinung erfolge erst bei Eintritt der Grenzplasmolyse

[1] Mit den Auramin + KSCN-Versuchen, aus denen Strugger (1943) eine Bestätigung der Intrabilitätserhöhung ableitet, werden wir uns in einer weiteren Mitteilung auseinandersetzen.

(mit KSCN), während HÖFLER bereits 1928 zeigte, daß eine Aufquellung des Cytoplasmas durch Alkalisalze auch in hypotonischen Lösungen, d. h. in *unplasmolysierten* Zellen auftreten kann, in Form von Vakuolenkontraktion.

Wir möchten daher auf die zur Unterbauung der „Intrabilitätstheorie" erforderlichen Hilfskonstruktionen verzichten und die viel näher liegende Auffassung vertreten, in Zellen mit Kappenplasmolyse sei die Intrabilität (und Permeabilität, s. unten) kaum verändert, so daß auch nur geringe Stoffmengen eintreten. Diese können ihrerseits einen besonderen Aufquellungsmechanismus in Gang setzen. Über diesen Mechanismus wird unter (d) näheres zu sagen sein; unsere Auffassung von einer unveränderten Intrabilität wird durch folgende Versuchsergebnisse gestützt:

1. LiCl-Versuche: Kappenplasmolyse kann bereits eintreten, wenn die Außenkonzentration an LiCl nur 0,1 Mol (+ Rohrzuckerzusatz) enthält. Es sind also keineswegs 0,3—0,4 Mol (STRUGGER) im *Binnenplasma* nötig, um eine starke Aufquellung (15—20%) auszulösen.

2. Neutralrotversuche: Durch geringe Mengen von Neutralrot, das unter den gewählten Bedingungen die *Vakuole* färbt und im Cytoplasma nur in ganz geringer Menge nachweisbar ist, werden Kappenplasmolysegrade von über 25%, durch LiCl (0,1 Mol) solche von 15—20% erzielt. Vermutlich genügen auch bei LiCl zur Auslösung der Aufquellung so geringe Mengen, wie sie bei *normaler* Intrabilität ins Binnenplasma gelangen können.

3. Deplasmolyseversuche: Im Deplasmolyseversuch (Nr. 4) war es gelungen, innerhalb kurzer Zeit (15—20 min) das Kappenplasma durch mechanischen Druck wieder vollständig zu entquellen. Es ist wenig wahrscheinlich, daß die vermuteten großen Salzmengen von 0,3—0,4 Mol in dieser Zeit vollständig exosmieren können, vor allem dann nicht, wenn sie durch Adsorption, die ja die Aufquellung bewirken soll, im Plasma festgehalten werden. Anders, wenn nur geringe LiCl-Mengen im Binnenplasma vorhanden sind. Diese vermögen ihrerseits den Aufquellungsmechanismus in Gang zu setzen, der dann leicht durch geringen mechanischen oder osmotischen Druck behindert werden kann. Solche geringen Mengen können zudem innerhalb der Versuchsdauer die Zellen zum Teil schon verlassen haben.

Wir glauben daher die Ansicht vertreten zu dürfen, daß bei der Kappenplasmolyse die Intrabilität durchaus nicht pathologisch erhöht zu sein braucht.

Zu c): *Permeabilitätserniedrigung.* Mit der Permeabilitätserniedrigung steht es kaum besser als mit der Intrabilitätserhöhung: sie ist vielfach richtig beobachtet worden (WEIXL-HOFMANN 1930); ebenso sicher aber gibt es Fälle von Kappenplasmolyse, bei denen eine solche *nicht* nachweisbar ist. In unseren Versuchen z. B. haben wir aus der recht gleich-

mäßigen Rückdehnung der Vakuolen plasmolysierter Zellen auf eine Permeabilität für LiCl schließen müssen, die von der Normalpermeabilität nicht nennenswert unterschieden werden kann. Für Neutralrot scheint die Permeabilität gleichfalls unverändert zu sein; wenigstens haben wir stets gefunden, daß die Vakuolenfärbung in Zellen mit normalem und aufgequollenem Plasma gleich stark und in der gleichen Zeit eintrat. Halten wir dazu, daß bei der *Vakuolenkontraktion* sogar vielfach eine Permeabilitäts*erhöhung* angenommen wird (HENNER, HARTMAIR), so dürfte aus all dem der Schluß gezogen werden, bei Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion treten wohl Durchlässigkeitsveränderungen auf, aber nur gelegentlich, nicht etwa regelmäßig. Damit können sie aber nicht mehr als *Ursache*, sondern allenfalls als mögliche *Begleiterscheinung* angesprochen werden.

Zu d): *Der Aufquellungsmechanismus.* Wir haben uns bei der „Kappenplasmolysetheorie" bisher auf die Diskussion von Durchlässigkeitsänderungen beschränkt. Wenn wir diese ablehnen, so entfällt natürlich auch die Möglichkeit bzw. die Notwendigkeit, die Aufquellung des Cytoplasmas als eine direkte, unmittelbare Folge der Überschwemmung des Binnenplasmas mit „quellenden" Ionen (HÖFLER) hinzustellen. Gegen diese Kausalvorstellung sprechen ferner folgende Tatsachen: 1. Die Reversibilität der Kappenplasmolyse in LiCl. Es ist schwer sich vorzustellen, wie das LiCl, das (infolge Intrabilitätserhöhung) in großer Menge im Plasma vorhanden sein soll, während des Versuches gegen das Konzentrationsgefälle aus dem Binnenplasma wieder in die Außenlösung geschafft werden kann (in den Zellsaft gelangt es nicht, weil dessen osmotischer Wert sich nur sehr langsam erhöht).

2. Die Volumzunahme des Cytoplasmas infolge der Li-Wirkung kann durch recht geringe osmotische Kräfte gehemmt, durch mechanischen Druck sogar verhindert bzw. rückgängig gemacht werden[1]. Das macht es von vornherein unwahrscheinlich, daß die Cytoplasmaquellung etwa eine „Ladungsquellung" (KÜNTZEL) durch Ionen bzw. Gegenionen, eine „Peptisation" oder ein „Einsalzeffekt" ist. Solchen Hydratationseffekten liegen die Hauptvalenzkräfte von Ionen bzw. ionisierten Gruppen zugrunde, die vielfach stärker sind als osmotische Kräfte oder durch osmotische Kräfte erzeugte mechanische Drucke. Wir dürfen daher die durch LiCl bewirkte Plasmaaufquellung nicht einfach zu der „quellenden" Wirkung der Alkalisalze auf Kolloidmodelle in Beziehung setzen. Sie ist keineswegs eine direkte Hydratationserhöhung, die ausschließlich auf einer Zunahme der Ladung durch Li-Adsorption beruht.

3. Eine völlig gleichartige Plasmaaufquellung haben wir mit Neutralrot erhalten. CURRIER (1949) berichtet das gleiche von 4 verschiedenen

[1] Bereits 1930 berichteten HUBER und HÖFLER beiläufig, daß das Kappenplasma erhebliche osmotische Volumenänderungen durchlaufen kann.

Herbiciden, darunter 2,4-D. HÖFLER (1949) beobachtete Tonoplastenplasmolyse in 1 Mol Traubenzuckerlösung, REUTER (1949) in Harnstofflösung und FITTING (1920) in Glyzerin und schließlich konnte LANZ (1942) sogar mit $Ca(NO_3)_2$ Kappenplasmolyse erzielen. Da den genannten Stoffen keinerlei Kolloidaktivität im Sinne der „quellenden" Alkalisalze zukommt, kann die Auslösung der Kappenplasmolyse also auch nicht der „quellenden" Salzwirkung zugeschrieben werden.

Diese Fakten, zusammen mit den unter b) und c) angeführten Argumenten, dürften der Salznekrosetheorie und dem Schema Intrabilitätserhöhung/Permeabilitätserniedrigung nachdrücklich widersprechen. Die Kappenplasmolyse ist nicht eine spezifische Folge quellender Ionen, sondern eine Reaktion auf zahlreiche, unterschiedliche und *unspezifische* Faktoren. Möglicherweise besteht in jedem Falle der erste Effekt dieser Faktoren in einer Adsorption wie beim LiCl (Versuch 2), doch ist diese viel zu gering, um die mächtige Aufquellung zu erklären. Sie löst vielmehr erst ihrerseits diejenigen Reaktionen aus, die dann zu einer Volumvergrößerung des Cytoplasmas führen.

Mithin bleibt von den beiden Erklärungsmöglichkeiten nur noch die Auslösereaktion übrig, womit der Gleichsetzung von Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion, die wir aus den in a) dargelegten Gründen fordern mußten, nichts mehr im Wege steht.

Das wichtigste *positive* Argument, das für die Richtigkeit dieser Auffassung spricht, bleibt natürlich die Reversibilität. Sie ist für die Vakuolenkontraktion seit langem bekannt und wurde zuletzt von SCHWENGBERG (1949) und SCHMITT (1950) besonders deutlich gemacht: an *Funaria* und *Allium* konnte spontane Vakuolenkontraktion, darauffolgende „Vakuolenexpansion" und nochmalige Vakuolenkontraktion beobachtet werden; der Ablauf dieser Vorgänge benötigt bei *Allium* insgesamt nur 20—40 min. Für die Kappenplasmolyse haben wir die Reversibilität nunmehr ebenfalls nachweisen können.

5. Abschließende Bemerkungen.

Unsere Untersuchungen sollen sich nach Möglichkeit nicht in einer bloßen Negierung der früher entwickelten Kappenplasmolysetheorien erschöpfen; es erscheint vielmehr wünschenswert, darüber hinaus zu neuen und besser fundierten Vorstellungen zu gelangen. Wir werden daher insbesondere nach dem Mechanismus der Auslösereaktion fragen, die der Plasmaaufquellung zugrunde liegt. Hierüber können wir jedoch beim gegenwärtigen Stand einstweilen nur Vermutungen äußern, die durch die hier mitgeteilten experimentellen Befunde keineswegs ausreichend begründet werden. Wir möchten daher unsere Ansicht lediglich als Arbeitshypothese formulieren, um sie für künftige Untersuchungen zu verwenden.

Hierüber läßt sich etwa folgendes sagen: Die *sichtbaren* Veränderungen an Protoplasten mit Kappenplasmolyse oder Vakuolenkontraktion sind Volumvergrößerungen des Cytoplasmas und Volumverringerung der Vakuole. Für die Volumvergrößerung des Cytoplasmas können wir „Plasmaaufquellung" setzen; für die Volumverringerung der Vakuole, die nicht auf osmotischem Wege erreicht wird, halten wir eine Entquellung von Vakuolenkolloiden für wahrscheinlich. An Stelle des Schemas Intrabilitätserhöhung/Permeabilitätserniedrigung hätten wir also das allgemeinere Schema Plasmaaufquellung/Entquellung von Vakuolenkolloiden zu setzen. Während bei Reizplasmolyse und Synärese nur eine Entquellung bzw. Entmischung der Vakuolenkolloide stattfindet, sind im Falle der Vakuolenkontraktion und Kappenplasmolyse beide Teilvorgänge miteinander gekoppelt. Diese Koppelung kann so eng sein, daß sogar quantitative Übereinstimmung besteht: das Cytoplasma nimmt genau diejenige Menge Wasser aus der Vakuole auf, die die Vakuole nicht mehr zu binden vermag. Die Verschiebung von Wasser aus der Vakuole in das Cytoplasma hat ihr Gegenstück in der bei unseren Versuchen sowie von SCHWENGBERG (1949) und SCHMITT (1950) beobachteten Vakuolenexpansion, bei der das aufgequollene Cytoplasma sein zusätzlich erworbenes Hydratationswasser wieder an die Vakuole zurückgibt. Danach würden also die quellungsfähigen Systeme in Cytoplasma und Vakuole gewissermaßen gegeneinander geschaltet sein: die Plasmakolloide als expansions-, besser relaxationsfähig, die Vakuolenkolloide als kontraktionsfähig, und beide könnten in neue Gleichgewichtszustände übergeführt werden, abhängig oder unabhängig voneinander.

Wichtig ist dabei, daß diese Hydratationsveränderungen keine direkten „Ladungsquellungen" sind, sondern erst im Gefolge bestimmter plasmatischer Reaktionen auftreten, die durch die verschiedenen Agenzien lediglich *ausgelöst* werden und daher selbst bei Anwesenheit des Auslösers reversibel sein können.

Es bestehen keine grundsätzlichen Schwierigkeiten, sich derartige Strukturen und Prozesse im lebenden Protoplasma vorzustellen: Die Kontraktilität des *Cytoplasmas* und die Auslösung der Kontraktionen auf verschiedene Reize hin ist seit langem bekannt; es sei nur an die Muskeltätigkeit erinnert, sowie an die von SEIFRIZ entwickelte Theorie der Plasmaströmung, die auf rhythmische Kontraktionen und Relaxationen von Polypeptidketten begründet ist. Wir dürfen annehmen, daß in der normalen, arbeitsfähigen Zelle die Proteinmolekeln nicht vollständig gestreckt sind, sondern teilweise gefaltet, möglicherweise sogar als Sphäro- oder Blockproteine vorliegen. Sie können daher auf bestimmte Anlässe hin entfaltet bzw. gestreckt werden und so ihre wasserbindende Oberfläche und ihr Volumen erheblich vergrößern (vgl. auch die Unter-

suchungen DEUELS an Pektinen) In Übereinstimmung hiermit wird im Plasma von Zellen mit Vakuolenkontraktion oder Kappenplasmolyse bei Einsetzen der Plasmaaufquellung jede Plasmaströmung sofort sistiert, möglicherweise, weil die Proteinmolekeln nunmehr stärker gestreckt worden sind und ihre Kontraktilität (vorübergehend) verloren haben (vgl. aber WEBER 1930!).

Diese Interpretation würde es ermöglichen, die Kontroverse HÖFLER-FREY-WYSSLING aufzulösen. HÖFLER (1939) beanstandet mit Recht, daß ein nach dem Schema der Haftpunkttheorie aus gestreckten Polypeptidketten aufgebautes Cytoplasma nicht imstande ist, so mächtig aufzuquellen. Erweitert man das Schema jedoch derart, daß die Polypeptidketten nicht gestreckt, sondern *zwischen den Haftpunkten* gefaltet sind, so kann durch Streckung dieser gefalteten Partien eine erhebliche Volumvergrößerung erzielt werden, ohne daß das Verknüpfungs- und Koordinationsmuster grundsätzlich gestört wird.

In der *Vakuole* sind ähnliche Möglichkeiten gegeben, wenn sie Eiweißkolloide enthält. Hier würde anzunehmen sein, daß die Molekeln stärker gestreckt sind als im Cytoplasma und daher vorwiegend mit einer Kontraktion reagieren. Die stark kolloidhaltigen Vakuolen der Boragineen- und Ranunculaceen-Korollzellen, bei denen sich der Vakuolenkörper auf einen „Reiz" hin *unter Formerhaltung* kontrahiert, geben dafür ein gutes Modell ab. Andere Fälle hat GUILLIERMOND eingehend untersucht: hier sind nur in embryonalen Zellen gelartige, wenig hydratisierte Vakuolen vorhanden. Diese hydratisieren sich im Laufe der Differenzierung immer stärker, nehmen beträchtlich an Volumen zu und verschmelzen schließlich zu der bekannten stark hydratisierten Zentralvakuole. Es ist zu erwarten, daß diese Veränderungen bis zu einem gewissen Grade reversibel sind, und in der Tat konnte Vakuolenentquellung an ausdifferenzierten Zellen verschiedentlich belegt werden. — Soweit es sich bei den Vakuolenkolloiden etwa um lezithinähnliche Substanzen handelt, kann auch an eine Störung der Koazervation gedacht werden.

Bedeutungsvoll ist in diesem Zusammenhange ein neuer Befund BÜNNINGS an *Iris*zellen: bestimmte Vakuolenkolloide können auf verschiedene Einflüsse hin (Wasserentzug, Plasmolyse, Färbung mit Neutralrot) *plötzlich* mit einer Volum*vergrößerung* reagieren, welcher Vorgang ebenfalls reversibel ist.

Wir schließen uns der Vermutung BÜNNINGS an, daß als primäre Ursache der Relaxation wie auch der Kontraktionen Ladungsveränderungen anzusehen sind. Wir möchten darin noch einen Schritt weiter gehen und annehmen, daß diese primäre Ladungsveränderung oft nur verhältnismäßig gering zu sein braucht, insbesondere, wenn sie durch Wasserentzug, Neutralrot oder gar spontan im Verlaufe einer allmählichen Alterung zustande kommt; zu gering jedenfalls, als daß damit die Quellungsveränderung direkt und quantitativ erklärbar

würde. Sie löst erst ihrerseits die eigentliche Kontraktion bzw. Relaxation aus. Dieses hier in ganz groben Zügen entworfene, rein spekulative Bild eines relaxationsfähigen Plasmas und kontraktiler Vakuolenkolloide wenigstens in einigen Einzelheiten sicherzustellen, wird noch ausgedehnter Untersuchungen bedürfen. Diese sollen zugleich der Klärung vieler Einzelfragen dienen, die durch die bisherigen Experimente noch nicht aufgehellt und zum Teil erst aufgeworfen worden sind, wie z. B. die Verlangsamung der Kappenplasmolyse gegenüber der Vakuolenkontraktion, die Irreversibilität der Kappenbildung bei zu schneller Aufquellung, die Mechanismen bei der Rückbildung, die gründliche Auswertung der Kurvenbilder usw.

Zum Schluß möchten wir nochmals unsere in der Einleitung vertretene Ansicht betonen: Die hier versuchte gemeinsame Behandlung schließt natürlich keinesfalls aus, daß die verschiedenen Phänomene noch weitgehend mit individuellen Zügen ausgestattet sind, und daß sie sich in manchen Punkten deutlich voneinander unterscheiden können — es sei nur an die bei Kappenplasmolyse sistierte, bei Vakuolenkontraktion aber zum Teil aufrechterhaltene Plasmaströmung erinnert. Es besteht also keine Veranlassung, das auf Herausarbeitung von Unterschieden abzielende Anliegen der vergleichenden Protoplasmatik für entbehrlich zu halten. Wir beabsichtigen lediglich, der schier unübersehbaren Fülle von Einzelfakten dadurch das Gegengewicht zu halten, daß wir unseren Blick für das allen Zellen Gemeinsame, für die Konstitution „der" lebenden Zelle zu schärfen versuchen.

Zusammenfassung.

An Epidermiszellen von *Allium Cepa* (Schuppenober- und unterseite) wird die Abhängigkeit der Kappenbildung und Vakuolenkontraktion vom osmotischen Wert und der Auslöserkonzentration in der Außenlösung untersucht. Als auslösende Agenzien dienen LiCl und Neutralrot.

1. Kappenplasmolyse mit LiCl, Unterepidermis:

a) In reinen LiCl-Lösungen ist der Aufquellungsgrad des Cytoplasmas um so größer, je *niedriger* die Konzentration ist.

b) In Kombinationslösungen LiCl + Rohrzucker, in denen die LiCl-Konzentration wechselt, der gesamte osmotische Wert aber konstant gehalten wird, ist der (maximale) Aufquellungsgrad um so größer, je *höher* die LiCl-Konzentration ist. In diesem Falle ist die Aufquellung eine logarithmische Funktion der Auslöserkonzentration. Die mathematisch formulierte Beziehung gilt nur bei Isotonie der zu vergleichenden Lösungen.

c) In Kombinationslösungen LiCl + Rohrzucker, in denen die LiCl-Konzentration konstant ist, der gesamte osmotische Wert jedoch

wechselt, zeigt sich, daß hier die Aufquellung weder eine lineare noch eine logarithmische Funktion des osmotischen Wertes ist.

d) Die Aufquellung wird also gefördert durch LiCl, gehindert durch hohe osmotische Werte. Die beiden Effekte folgen *verschiedenen* Abhängigkeitsbeziehungen.

e) Die LiCl-Kappenplasmolyse ist *reversibel* in LiCl; eine Übertragung in $Ca^{\cdot\cdot}$-Lösungen ist nicht erforderlich.

f) Die Reversion der Plasmaaufquellung ist auch durch mechanischen Druck möglich (Deplasmolyseversuche). Dabei werden Erscheinungen beobachtet, die als „umgekehrte Vakuolenkontraktion" gedeutet werden können. Es wird vermutet, daß in solchen Fällen eine Vakuolenkontraktion plasmolysierter Zellen vorausgegangen ist.

2. Vakuolenkontraktion mit LiCl, Unterepidermis: Hypotonische LiCl-Lösungen erzeugen Vakuolenkontraktion; durch Rohrzuckerzusatz hypertonisch gemacht, bewirken die gleichen Konzentrationen Kappenplasmolyse. Dabei tritt die Vakuolenkontraktion schneller ein als die Kappenplasmolyse.

3. Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion mit Neutralrot, Oberepidermis: Neutralrot, das gewöhnlich Vakuolenkontraktion hervorruft, bewirkt in plasmolysierten Zellen (Kombinationslösungen mit Rohrzucker, Phosphatpuffer p_H 7,2) sehr starke Kappenplasmolyse. Sie erfolgt erheblich schneller als in LiCl-Lösungen; ihre Reversibilität kann daher nicht beobachtet werden.

4. In ergänzenden Versuchen wird gezeigt, daß Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion auch in der Unterepidermis durch Neutralrot, in der Oberepidermis durch LiCl hervorgerufen werden können.

5. In der Diskussion der Ergebnisse wird auf den engen Zusammenhang zwischen Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion hingewiesen. Die in den aus der Literatur bekannten Kausalvorstellungen getroffene Unterscheidung (Vakuolenkontraktion = Reizreaktion, Kappenplasmolyse = Salznekrose als Folge von Intrabilitätserhöhung) wird verlassen: die Cytoplasmaaufquellung kann bei Vakuolenkontraktion *und* Kappenplasmolyse als eine Auslösereaktion aufgefaßt werden, deren Mechanismen durch sehr verschiedene Agenzien (in geringen Konzentrationen) in Gang gesetzt werden. Insbesondere für die Kappenplasmolyse wird das Schema Intrabilitätserhöhung/Permeabilitätsherabsetzung aufgegeben und an seine Stelle das allgemeinere Schema Plasmaaufquellung/„Entquellung" von Vakuolenkolloiden gesetzt. Es wird vermutet, daß hierbei Relaxations- und Kontraktionsmechanismen eine Rolle spielen. Es wird versucht, eine Arbeitshypothese zusammenzustellen, die eine gemeinsame Behandlung von Kappenplasmolyse,

Vakuolenkontraktion, Reizplasmolyse und Zellsaftsynärese erlaubt. Sie soll bei weiteren Untersuchungen verwendet werden.

Der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft danken wir für die Unterstützung unserer Untersuchungen.

Literatur.

Bünning, E.: Planta (Berl.) **37**, 431 (1949). — Currier, H. B.: Plant Physiology **24**, 601 (1949). — Deuel, H., u. G. Huber: Helvet chim. Acta **33**, 10 (1950). — Fitting, H.: Jb. Bot. **56**, 1 (1915); **59**, 1 (1920). — Gicklhorn, J., u. F. Weber: Protoplasma (Berl.) **1**, 427 (1926). — Guilliermond, A.: The cytoplasm of the plant cell. Waltham, Mass. 1948. — Hartmair, V.: Protoplasma (Berl.) **28**, 582 (1938). — Henner, J.: Protoplasma (Berl.) **21**, 81 (1934). — Höfler, K.: Ber. dtsch. bot. Ges. **46**, 73 (1928); **63**, 3 (1950). — Protoplasma (Berl.) **33**, 545 (1939). — Houska, H.: Protoplasma (Berl.) **36**, 11 (1941). — Huber, B., u. K. Höfler: Jb. Bot. **73**, 351 (1930). — Kaiserlehner, E.: Protoplasma (Berl.) **33**, 579 (1939). — Keil, R.: Protoplasma (Berl.) **10**, 568 (1930). — Küntzel, A.: In A. Kuhn, Kolloidchemisches Taschenbuch. Leipzig 1948. — Küster, E.: Protoplasma (Berl.) **1**, 73 (1926). — Lanz, J.: Protoplasma (Berl.) **36**, 382 (1942). — Pekarek, J.: Protoplasma (Berl.) **34**, 177 (1940). — Reuter, L.: Österr. bot. Z. **95**, 373 (1949). — Schmitt, E.: Diss. Gießen 1950. — Schwengberg, H.: Diss. Gießen 1949. — Seifriz, W.: Bot. Rev. **9**, 41 (1943). — Strugger, S.: Protoplasma (Berl.) **10**, 363 (1929); **37**, 429 (1943). — Ber. dtsch. bot. Ges. **50**, 24 (1932). — Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin 1949. — Weber, F.: Protoplasma (Berl.) **9**, 106; **10**, 598; **11** 312 (1930). — Weixl-Hofmann, H.: Protoplasma (Berl.) **11**, 211 (1930). — Zollinger, H. U.: Amer. J. Path. **23**, 1039 (1948).

Prof. Dr. H. J. Bogen, (16) Marburg a. d. Lahn, Botanisches Institut.

Planta, Bd. 39, S. 36—64 (1951).

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung,
Erwin-Baur-Institut, Voldagsen.

POLYPLOIDIE-EFFEKTE BEI DATURA TATULA.

Von
WILHELM RUDORF und PAUL SCHWARZE.

Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. Oktober 1950.)

1940/41 wurden am Kaiser-Wilhelm-Institut für Züchtungsforschung in Müncheberg tetraploide Formen von *Datura tatula* und *Datura meteloides* hergestellt mit dem Ziel, amphidiploide Bastarde beider Arten zu erzeugen. Diese *Datura*-Arten enthalten die pharmazeutisch genutzten Alkaloide Hyoscyamin und Scopolamin. Bei der frühreifen *Datura tatula* überwiegt das Hyoscyamin, bei der spätreifen, für den Anbau im norddeutschen Klimaraum ungeeigneten *Datura meteloides* das wertvollere Scopolamin. Es wurde erhofft, daß der amphidiploide Bastard mit ausreichender Frühreife einen hohen Scopolamingehalt verbinde. Bei der ersten Untersuchung der tetraploiden *Datura-tatula*-Stämme, von denen bald ausreichendes Material zur Verfügung stand, stellte sich heraus, daß die Polyploidisierung mit einem bemerkenswerten Anstieg des Alkaloidgehaltes in den Blättern verbunden ist. Dieser im Hinblick auf die Frage der Alkaloidbildung und die Nutzung von *Datura tatula* als Blattdroge gleichwichtige Befund gab den Anlaß, den Zusammenhang zwischen polyploidem Zustand und erhöhtem Alkaloidgehalt genauer zu analysieren. Auf der Bearbeitung dieser Frage liegt das Schwergewicht der Arbeit. Darüber hinaus bot das reichhaltige und umfangreiche Material zweier Feldversuche Gelegenheit zu Untersuchungen über die morphologischen Eigentümlichkeiten, die Stoffproduktion und die Fertilität der *Datura*-Polyploiden. Schließlich haben wir zur Klärung der Befunde weitere vergleichende biochemische Untersuchungen sowie Assimilations-, Atmungs- und Transpirationsmessungen durchgeführt. Der Plan, diese 1943/44 begonnenen Versuche in den folgenden Jahren zu wiederholen und zu ergänzen, hat sich infolge der Kriegsereignisse nicht verwirklichen lassen. Da die Arbeiten in absehbarer Zeit nicht wieder aufgenommen werden können, haben wir uns entschlossen, die vorliegenden Ergebnisse zu veröffentlichen. Ein erster, kurzer Bericht über einen Teil der Untersuchungen wurde bereits 1944 erstattet (RUDORF, 18).

Die Literatur ist nach der Entdeckung der polyploidisierenden Wirkung des Alkaloids Colchicin durch BLAKESLEE und AVERY (2) sowie

gleichzeitig NEBEL und RUTTLER (14) gewaltig angewachsen und ist uns nur sehr unvollständig zugänglich. Nicht einmal alle deutschen Arbeiten über Polyploidie konnten erfaßt werden, da sie aus zeitbedingten Gründen gar nicht alle veröffentlicht wurden. Wir berichten deshalb im wesentlichen über eigene Beobachtungen und ziehen lediglich zur Diskussion andere Veröffentlichungen, die zur Deutung unserer Ergebnisse wichtig sind, heran.

Leider ist ein Teil der Versuchsaufzeichnungen verlorengegangen, so daß sich nicht mehr alle Befunde ordnungsgemäß mit Zahlen belegen lassen. Als signifikant werden Unterschiede bezeichnet, die größer als der dreifache mittlere Fehler sind.

I. Material und Methoden.

Die für die Versuche benutzten *Datura*-Stämme 4122, 4140, 3422, 3742 und 3310 gehen auf Pflanzen zurück, die durch Behandlung keimender Samen mit 0,05%iger Colchicinlösung gewonnen waren. Der Nachweis der Genomverdoppelung wurde durch Pollenmessungen und Wurzelspitzenuntersuchungen erbracht. Alle Formen haben sich als konstant erwiesen, nur gelegentlich traten gestörte Pflanzen auf, die aneuploid sein mögen. Mit Ausnahme von 3310 sind die Stämme unbestachelt. Die *Inermis*-Stämme unterscheiden sich morphologisch nur unbedeutend voneinander, während der andere Stamm außer der Bestachelung weitere morphologische Besonderheiten zeigt[1]. Zum Vergleich mit den Tetraploiden wurde ein diploider Stamm angebaut, der zwar keine reine Linie darstellte, aber ziemlich gleichförmig war und mit den Tetraploiden verglichen werden konnte. Genetisch identische diploide und tetraploide Linien standen nicht zur Verfügung, da vor der Polyploidisierung keine reinen Linien ausgelesen wurden; sie waren für den ursprünglichen Zweck ja auch nicht erforderlich.

Das Material für die ersten Versuche war im Gewächshaus und später im Frühbeet angezogen worden. Da diese Pflanzen eine im Vergleich zu Freilandmaterial geringere Wüchsigkeit zeigten, erschien es geboten, die weiteren *Versuche im Freiland* durchzuführen, unter Verhältnissen, die eine volle Entfaltung gewährleisteten. 1943 wurden die Tetraploiden auf gleichmäßig bearbeitetem und gedüngtem Müncheberger Sandboden geprüft. Dieser Versuch umfaßte je Stamm 6 Wiederholungen, die systematisch verteilt waren. Jede Wiederholung bestand aus wenigstens 36 Pflanzen, von denen unter Ausschluß der Rand- und Lückenpflanzen 8—12 für die Untersuchung entnommen wurden, und zwar in einem frühen, einem mittleren und einem späten Stadium, um Aufschluß über die Änderungen des Alkaloidgehaltes im Laufe der Vegetationsperiode zu erhalten. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte im Gewächshaus und später in Frühbeetlagen. Am 26. 5. wurden sie auf eine Entfernung von 30 × 30 cm ausgepflanzt und am 16. 6. mit Kalkammonsalpeter gedüngt (N-Gehalt 20%, 200 kg/ha). 1944 wurde ein *Düngungsversuch* mit den Parzellen NPK, PK, N und O angelegt. Jeder Stamm war je Düngungsart mit 4 Parzellen zu je 24 Pflanzen vertreten. Die Standweite betrug 40 × 40 cm, an Nährstoffen wurden je Hektar verabreicht: 400 kg Kalkammonsalpeter (20% N), 200 kg Kalisalz (40%), 375 kg Thomasmehl (16% P_2O_5).

[1] Das Gen für Bestachelung wirkt offenbar pleiotrop auf Wuchshabitus und physiologische Vorgänge, wie aus dem Ergebnis der Kreuzung bestachelter mit unbestachelten, im übrigen aber genetisch identischer Formen zu entnehmen ist.

In diesen Versuch konnten nur die tetraploiden Stämme 4122, 3742 und 3310 aufgenommen werden, hinzu kam aber eine zweite diploide Form, und zwar der bestachelte Stamm 486. Wie sich später herausstellte, eignet er sich nicht als Kontrolle, da er morphologisch und auch im sonstigen Verhalten stark von den anderen Stämmen abweicht. Bei der Hälfte der Pflanzen wurden zweimal, bei der anderen Hälfte dreimal Blätter geerntet. Während einer längeren Trockenzeit wurden alle Parzellen gleichmäßig künstlich beregnet.

Die für die Untersuchung vorgesehenen Pflanzen oder Pflanzenteile wurden unmittelbar nach der Ernte gewogen oder, wenn dies aus technischen Gründen nicht möglich war, vor Wasserverlust geschützt aufbewahrt. Nach dem Wägen wurden sie in einen auf 100° geheizten Thermostaten gebracht, um die Fermente unwirksam zu machen, und anschließend im Ventilatortrockenschrank bei 60° getrocknet. Dickere Pflanzenteile, Stengel und Früchte, wurden vorher zerschnitten. Die Trockenmasse wurde gewogen und gemahlen und in verschließbaren Glasgefäßen bis zur Untersuchung aufbewahrt. Vor Entnahme der Analysenproben wurde das Mahlgut gründlich gemischt und in einem aliquoten Teil das restliche Wasser bestimmt.

Für die zahlreichen *Alkaloidbestimmungen* waren die vorhandenen Methoden der Tropabasenbestimmung ungeeignet, da sie zu große Materialmengen, 10 g und mehr, erfordern. Es gelang ein Verfahren zu finden, das mit etwa $^1/_{10}$ dieser Menge auskommt. Wie das Verfahren zur Bestimmung der Süßlupinenalkaloide beruht es auf der Fällung der Basen mit Kieselmolybdänsäure und der photometrischen Messung des im Niederschlag gebundenen Molybdäns nach Lösung und Reduktion zu Molybdänblau.

0,5—1,0 g Trockensubstanz werden in einer Glasstopfenflasche von 50 cm³ Inhalt mit 1 cm³ 95%igem Äthylalkohol, 0,1 cm³ 10%iger Ammoniaklösung und 20 cm³ Chloroform versetzt. Außerdem werden 3 Glas- oder Porzellankugeln von etwa 6 mm Durchmesser in die Flasche gegeben. Nach $^1/_2$stündigem Schütteln in der Maschine wird durch ein bedecktes Filter filtriert und ein aliquoter Teil der Chloroformlösung, in der Regel 15 cm³, mit 2 cm³ verdünnter Essigsäure (6% Eisessig und 5% Alkohol) in einer zweiten Flasche ausgeschüttelt ($^1/_4$ Std in der Maschine). Tritt die Phasentrennung nicht spontan ein, so ist 5—10 min zu zentrifugieren (etwa 1500 Umdr./min). Von der klaren essigsauren Lösung wird 1 cm³ in ein Präparatenglas (5,5 × 1,4 cm) abgenommen und mit 0,5 cm³ Kieselmolybdänsäure gefällt. Das Reaktionsgemisch wird 5 min im kochenden Wasserbad erhitzt und über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Nur bei dieser Behandlung ist die Fällung quantitativ und der Niederschlag filtrierbar. Das eiskalte Reaktionsgemisch wird mit Hilfe eines Mikrofilterstäbchens filtriert und der Niederschlag zweimal mit je 1 cm³ eisgekühlter 1%iger Natriumchloridlösung gewaschen. Mit einer ammoniakalischen Lösung von Natriumbisulfit und Glycin-Agfa wird der Niederschlag in Lösung gebracht und das gebundene Molybdän zu Molybdänblau reduziert. Schließlich wird nach der Filtration, unter Verwendung desselben Filterstäbchens, auf 10 cm³ aufgefüllt und im Pulfrichphotometer die Extinktion ermittelt (Schichtdicke 1 cm, Filter S 72) und aus einer Eichkurve der zugehörige Prozentgehalt entnommen. Der Eichkurve liegt eine Lösung zugrunde, die Hyoscyamin und Scopolamin im Verhältnis 4:1 enthielt, und zwar 10 mg Gesamtalkaloid im Kubikzentimeter. Je 0,1—1 cm³ wurden in der oben beschriebenen Weise behandelt. Einzelheiten über die technische Durchführung der Bestimmungen und die Herstellung der erforderlichen Lösungen sind in den Arbeiten von MEYER (9) sowie SCHWARZE und WOLLNER (23) enthalten.

Da das Verfahren für Tropabasen nicht spezifisch ist, besteht die Möglichkeit, daß wertlose Nebenalkaloide, etwa vom Typ des Tetramethylputrescins, miterfaßt

werden. Um diese Frage zu prüfen, haben wir quantitative Bestimmungen nach dem Verfahren von ALLPORT und WILSON(1), das auf der für Tropabasen charakteristischen Reaktion von VITALI und MORIN beruht, durchgeführt. Auf Grund eigener Erfahrungen haben wir den Analysengang etwas abgeändert:

0,2—0,5 g Trockensubstanz wurden in der oben beschriebenen Weise extrahiert. Vom essigsauren Extrakt wurde im 100 cm³-Becherglas 1 cm³ auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft, mit 0,2 cm³ rauchender Salpetersäure ($s = 1{,}5$) versetzt und abermals vollständig eingedampft. Nach Abkühlen im Exsikkator wurde der Rückstand in wenig Aceton gelöst und in ein 10 cm³-Meßkölbchen übergespült und zur Marke aufgefüllt. Unmittelbar vor der Messung im Pulfrichphotometer ($^1/_2$ cm-Küvette) wurde 0,1 cm³ frisch hergestellte 3%ige methylalkoholische Kalilauge zugegeben. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe einer ähnlich wie oben hergestellten Eichkurve.

Die Ergebnisse, die wir mit diesem Verfahren erhalten haben, stimmen mit denen der Molybdänsäuremethode überein. Es sind also entweder außer den Tropabasen keine anderen Alkaloide vorhanden oder diese werden durch Kieselmolybdänsäure nicht gefällt. Für Serienbestimmungen ist nach unseren Erfahrungen die Methode nicht geeignet, da die Farblösung unbeständig und meistens auch getrübt ist.

Die *reduzierenden Zucker* haben wir nach SCHOORL unter Verwendung der carbonatalkalischen LUFFschen Lösung (20) bestimmt. Enteiweißt wurde mit Wolframsäure und invertiert durch Erwärmen des mit Salzsäure angesäuerten Filtrates (5).

Der *Stärkegehalt* wurde nach HOCK (7) ermittelt und parallel dazu nach einer kolorimetrischen Methode, die in Anlehnung an ein in der Literatur angegebenes Verfahren entwickelt wurde. Es kann nur im Prinzip mitgeteilt werden, da die experimentellen Unterlagen verlorengegangen sind. Das getrocknete und fein zerkleinerte Material wird mit hochprozentiger Perchlorsäure extrahiert und ein aliquoter Teil des filtrierten, farblosen Extraktes, der die Stärke gelöst enthält, mit Jodjodkali versetzt. Die entstehende Blaufärbung wird im Photometer gemessen und aus einer Eichkurve der der Extinktion entsprechende Stärkegehalt entnommen. Nur wenn die Versuchsbedingungen streng konstant gehalten werden, erhält man mit dieser empfindlichen Methode reproduzierbare und genaue Ergebnisse. Sie ist einfacher in der Durchführung und erfordert weniger Zeit als alle anderen Stärkebestimmungsmethoden.

Die *Veraschung* wurde im Muffelofen vorgenommen. Zur Beschleunigung und vollständigen Entfernung des Kohlenstoffes wurde die Verbrennung unterbrochen und nach Zusatz von einigen Tropfen Perhydrol fortgesetzt. Die Rohasche wurde gewogen und in verdünnter Salzsäure gelöst, der zurückbleibende Sand durch Filtrieren abgetrennt und nach Veraschung des Filters gewogen. Die Bestimmung des *Sandanteiles* war besonders deshalb nötig, weil die Tetraploiden infolge ihres niedrigen Wuchses meist stärker mit Sand verunreinigt sind als die Diploiden.

Zur Bestimmung des *N-Gehaltes* wurde die KJELDAHL-Methode in der am Müncheberger Institut entwickelten Form benutzt (22). Die Abtrennung des *Eiweißes* erfolgte durch Fällung mit Trichloressigsäure unter den bekannten Bedingungen.

Um ein Maß für die *Assimilationsintensität* zu erhalten, haben wir unter Verwendung der SACHSschen Blatthälftenmethode die Trockensubstanzzunahme in belichteten Blatthälften gemessen, und zwar in je 50 tetraploiden und diploiden Blättern. Die Blatthälften wurden gewogen und in Glasschalen, deren Böden mit Filtrierpapier und darüber mit einem weiten Gitter aus Glasstäben bedeckt waren, ausgelegt. Durch diese Anordnung wurde erreicht, daß auch die Unterseite der

Blätter von Luft umspült war. Das Filtrierpapier war mit Bikarbonatlösung getränkt, aus der durch Zutropfen von Säure CO_2 in Freiheit gesetzt wurde. Ein Teil der Schalen wurde dem Licht ausgesetzt, der andere Teil mit den zugehörigen Blatthälften bei gleicher Temperatur im Dunkeln aufbewahrt. Nach Abschluß des Versuches wurden die Blätter photokopiert und schließlich getrocknet und gewogen. Die Blattflächen wurden mit Hilfe des Planimeters ausgemessen.

Die *Atmungsintensität* haben wir auf Grund der ausgeschiedenen CO_2-Menge ermittelt, und zwar wiederum an je 50 tetraploiden und diploiden Blättern. Die Blätter befanden sich während des Versuches in verdunkelten Glasgefäßen, die aus zwei durch Schliff luftdicht miteinander verbundenen Halbkugeln zusammengesetzt waren. Die untere Hälfte enthielt eine mit 50 Löchern versehene Porzellanplatte, in welche die Blätter mit den Stielen eingestellt wurden. Die Blätter standen also aufrecht und waren während des Versuches allseitig von Luft umgeben. Durch die Glocke wurde CO_2-freie Luft hindurchgeleitet und das CO_2 der austretenden Luft mit $Ba(OH)_2$-Lösung aufgefangen und darin in der bekannten Weise bestimmt.

Die *Transpirationsversuche* haben wir mit abgeschnittenen Blättern durchgeführt. Diese wurden mit den Stielen in kleine Flaschen eingestellt. Die Flaschen waren mit Wasser gefüllt und dieses mit Paraffinöl überschichtet. Als Maßstab der „Transpirationsintensität" galt der während des Versuches eintretende Gewichtsverlust. Wir sind uns klar darüber, daß man mit diesen Versuchen lediglich in den Blättern gelegene Faktoren, die von Einfluß auf die Transpiration sind, erfassen kann.

II. Ergebnisse.

A. Morphologische und anatomische Beobachtungen.

Vollentwickelte tetraploide Pflanzen unterscheiden sich bereits in ihrem Habitus deutlich von diploiden Formen; sie sehen buschig aus und sind niedriger als die Diploiden. Bei genauem Zusehen stellt man fest, daß die Achsen offenbar verkürzt und die Blätter vergrößert und stärker gewellt sind. Um einen genauen Einblick zu erhalten, haben wir die Achsen gemessen, die Zahl der Verzweigungen festgestellt und die Blätter nach Größe, Form, Gewicht und Anzahl je Pflanze untersucht.

1. Länge der Hauptachse (von Ansatzstelle der Keimblätter bis zur ersten Verzweigung; Tabelle 1). Die mit der $2n$-Form vergleichbaren *Inermis*-Tetraploiden zeigen bis auf den Stamm 3422 keine gesicherten Unterschiede. Dieser Stamm besitzt eine längere Hauptachse, ebenso der bestachelte Stamm 3310, der aber, wie schon betont, nicht mit der unbestachelten Form verglichen werden darf.

Tabelle 1. *Stengellänge, Länge des ersten Zweiginternodiums und Zahl der Verzweigungen.*

	Stamm Nr.					
	4122	4140	3742	3422	3310	2 n
Stengellänge (cm)	17,74	18,25	17,72	21,19	22,83	18,35
Länge des 1. Zweiginternodiums (cm)	5,87	6,58	6,86	10,13	13,51	14,61
Zahl der Verzweigungen.	4,75	5,75	4,67	5,35	11,00	11,48

Tabelle 2. *Länge und Breite der Blätter.*

	Stamm Nr.					
	4122	4140	3742	3422	3310	2 *n*
Blattlänge (cm)	17,33	16,95	19,38	16,54	15,92	18,45
Blattbreite (cm)	15,19	14,69	16,36	14,42	14,29	15,35
Länge: Breite	1,14	1,15	1,18	1,14	1,11	1,20

2. Länge des ersten Internodiums der Zweige I. Ordnung (Tabelle 1). Bei den Stämmen 4122, 4140 und 3742 ist eine starke Verkürzung festzustellen. Weniger ausgeprägt, aber noch gesichert, ist sie beim Stamm 3422 und nicht nachweisbar bei der bestachelten Form 3310.

Tabelle 3. *Gewicht von 100 Blättern, Feldversuch 1944, Volldüngung NPK.* (Trockensubstanz in g, Relativwerte bezogen auf 2 *n* = 100.)

	Stamm Nr.			
	4122	3742	3310	2n
Einmal gepflückt.				
1. Stadium	150,0	177,6	122,9	100,0
2. Stadium	162,1	156,7	101,3	100,0
3. Stadium	196,9	282,2	—	100,0
Zweimal gepflückt.				
1. Ernte	51,34	60,78	42,07	34,22
2. Ernte	15,55	20,15	10,37	9,96
1. u. 2.	66,89	80,93	52,44	44,18
Relative Werte . . .	151,00	183,00	118,50	100,00

Die folgenden Internodien wurden nicht vermessen, doch waren sie bei den Stämmen 4122, 4140 und 3742 augenscheinlich auch stark verkürzt.

3. Die Zahl der Verzweigungen (Tabelle 1). Infolge des Verlustes der Einzelwerte konnten die mittleren Fehler nicht berechnet werden, doch darf als sicher gelten, daß bei den polyploiden Stämmen mit Ausnahme von 3310 die Zahl der Zweige herabgesetzt ist.

4. Länge und Breite der Blätter (Tabelle 2). Die Blattlänge, gemessen von der Stielansatzstelle bis zur Spitze, zeigt bei den Tetraploiden 4122 4140 und 3422 gegenüber 2 *n* eine geringe, aber gesicherte Verkürzung. Nicht signifikant sind aber die Differenzen in der Blattbreite. Die bei anderen Polyploiden beobachtete Verkürzung und Verbreiterung der Spreite tritt also bei *Datura* nicht sehr in Erscheinung, wohl aber sind die Blätter verdickt und zeigen dunklere Färbung und lederartige Beschaffenheit, was allgemein kennzeichnend für die Polyploiden ist.

5. Das Gewicht der Trockensubstanz von 100 Blättern (Tabelle 3). Die Blätter stammten aus der NPK-Parzelle des Düngungsversuches. Von einem Teil der Pflanzen wurden sie nur einmal, von einem anderen Teil nach Wiederbildung erneut entnommen. Im ersten Fall erfolgte die Entnahme in einem frühen, einem mittleren und einem späten Entwicklungsstadium. Die Ergebnisse bringen eindeutig zum Ausdruck, daß die Blätter der unbestachelten Tetraploiden wesentlich schwerer

Tabelle 4. *Zahl der Blätter je Pflanze.*

	Stamm Nr.					
	4122	4140	3742	3422	3310	2 *n*
			1943.			
2. Stadium (4. 8.)	33,4	30,9	19,4	25,0	36,5	68,5
3. Stadium (28. 9.) . . .	48,4	43,1	25,6	40,6	53,1	66,1
Durchschnitt	40,9	37,0	22,5	32,8	44,8	67,3
Relative Werte	60,8	55,0	33,4	48,5	66,6	100,0
			1944 (zweimal gepflückt, Volldüngung mit NPK).			
1. Ernte	31,5		26,5		28,8	43,0
2. Ernte	68,0		52,3		58,8	81,1
1. und 2.	99,5		78,8		87,6	124,1
Relative Werte	80,5		63,4		70,5	100,0

sind. Auch bei 3310 ist eine Überlegenheit, allerdings geringeren Ausmaßes festzustellen.

6. Die Blattzahl je Pflanze. Aus den Ergebnissen beider Feldversuche ist zu ersehen, daß die Zahl der Blätter reduziert ist (Tabelle 4). Dieses schwächere Blattbildungsvermögen tritt bei allen Düngungsarten, auf den N-Parzellen aber besonders stark in Erscheinung, was aber nicht auf einer stärkeren Herabsetzung der Blattbildung beruht, sondern darauf, daß 2 *n-Inermis* auf den N-Parzellen überraschend viele Blätter entwickelt, sogar mehr als auf den NPK-Parzellen. Aus den Relativzahlen bezogen auf 2 *n-Inermis*, sowie denjenigen bezogen auf die Werte der O-Parzelle innerhalb der Stämme geht hervor, daß die tetraploiden Stämme kein größeres Anpassungsvermögen besitzen als die beiden diploiden Formen. Vielmehr paßt sich die 2 *n-Inermis*-Form den wechselnden Ernährungsbedingungen am besten an und bildet unter allen Bedingungen die meisten Blätter.

Tabelle 5. *Gewicht der Blätter je Pflanze.* (Trockensubstanz in Gramm.)

	Stamm Nr.					
	4122	4140	3742	3422	3310	2n
			1943			
1. Stadium (4. 8.)	14,70	12,68	11,97	13,82		19,03
2. Stadium (28. 9.) . . .	7,25	6,79	4,53	7,80		8,04
Durchschnitt	10,98	9,74	8,25	10,81		13,54
Relative Werte	81,00	71,80	60,90	79,90		100,00
			1944 (zweimal gepflückt, Volldüngung mit NPK).			
1. Ernte	16,17		15,66		12,28	14,72
2. Ernte	10,35		10,50		6,10	8,13
1. und 2.	26,52		26,16		18,38	22,85
Relative Werte	116,00		114,00		80,30	100,00

7. Das Gewicht der Blätter je Pflanze (Tabelle 5). Der Nutzungswert einer Blattdroge wird in erster Linie vom Blattertrag bestimmt. Zu seiner Ermittlung wurden am 4. 8. sowie am 28. 9. 43 alle voll- oder nahezu vollentwickelten Blätter der für diese Versuche vorgesehenen Pflanzen gepflückt. Bei der frühen Ernte liegen die Blattgewichte aller Tetraploiden deutlich unter denen der 2 *n*-Form, und auch zum späteren Zeitpunkt zeigen sich die Tetraploiden unterlegen, doch ist der Unterschied geringer, offenbar weil die Diploiden das Stadium der stärksten Blattentfaltung bereits hinter sich hatten. Entsprechend der langsameren Entwicklung der Tetraploiden erfährt auch die Ausbildung der Blätter eine Verzögerung, und nach unseren Beobachtungen setzt der Blattfall später ein und ist schwächer als bei den Diploiden.

1944 wurden bei Volldüngung für die beiden *Inermis*-Tetraploiden größere Blattgewichte festgestellt, und nur der Stamm 3310 zeigte sich auch in diesem Versuch der 2 *n*-Kontrolle unterlegen. Der Widerspruch zu den früheren Ergebnissen ist damit zu erklären, daß die Tetraploiden 1943 bei schwacher Düngung auf magerem Standort keine Gelegenheit hatten, ihre Anlagen zu entfalten, während diese Möglichkeit 1944 durch die reichliche Düngung und Beregnung gegeben war. Nur auf den N-Parzellen bewahrt 2 *n-Inermis* auch im Blattgewicht je Pflanze ihre Überlegenheit.

8. Das Verhältnis Blattstiel/Blattspreite. Der Befund, daß die trockenen Blattstiele mehr Alkaloid enthalten als die Blattspreiten, warf die Frage auf, ob nicht bei den Tetraploiden der Stielanteil vermehrt ist und dadurch ihr höherer Alkaloidgehalt zustande kommt. Das ist aber offensichtlich nicht der Fall; denn im Anteil der Blattstiele am Gesamtblatt bestehen bei 4122 und 3742 keine großen Unterschiede gegenüber 2 *n-Intermis*, bei 3310 ist der Anteil sogar erheblich verringert. 4122 und 3742 zeigen unter allen Ernährungsbedingungen höhere Blattstielgewichte je Pflanze als 2 *n-Inermis*. In der Reaktion auf unterschiedliche Nährstoffversorgung fällt der große Ausschlag von 2 *n-Inermis* auf den NPK- und N-Parzellen auf, während 4122 und 3742 besonders hohe Leistungen auf den O- und PK-Parzellen bringen.

9. Anatomische Beobachtungen. Wie in anderen Fällen ist auch bei *Datura* die Genomvermehrung mit Veränderungen der inneren Struktur verbunden. So ist die Zahl der Spaltöffnungen verringert und, was besonders am Pollenkorn deutlich in Erscheinung tritt, das Zellvolumen vergrößert. Wir haben diese Veränderungen, abgesehen von Pollenmessungen, die zur Erkennung der Polyploiden herangezogen wurden, nicht näher untersucht, da neue Erkenntnisse damit nicht zu gewinnen waren.

B. Untersuchungen über die Stoffproduktion.

Der andersartige, durch geringere Höhe und buschigen Wuchs gekennzeichnete Habitus der Tetraploiden und nicht zuletzt praktische Gesichtspunkte veranlaßten uns zu prüfen, ob die Polyploidisierung die Stoffproduktion beeinflußt und ob der Anteil der einzelnen Organe dabei eine Verschiebung erfährt.

1. Die Stoffproduktion je Pflanze (Abb. 1). Die Tetraploiden besitzen in allen Stadien ihrer Entwicklung die kleinere Masse. Im Jugendstadium beträgt die Minderproduktion nur etwa 20%, in den späteren Stadien rund 50% bei den *Inermis*-Polyploiden, bei dem bestachelten Stamm 3310 ist sie mit 25% weniger ausgeprägt.

Tabelle 6. *Verhältnis Wurzel/Sproß und Wurzel/Sproßorgane.* (Trockensubstanz, Wurzelanteil = 1.)

	Stamm Nr.					
	4122	4140	3742	3422	3310	2 *n*
1943.						
Ernte 9. 7.						
Wurzel	1	1	1	1		1
Stengel	1,77	2,02	2,20	2,17		3,02
Blätter	4,12	5,07	4,93	4,29		5,54
Blüten	0,31	0,36	0,56	0,24		0,46
Stengel u. Blätter u. Blüten	6,20	7,45	7,69	6,46		9,02
Ernte 4. 8.						
Wurzel	1	1	1	1	1	1
Stengel	3,09	2,87	2,80	3,27	4,89	7,23
Blätter	2,65	2,24	1,99	2,51	2,26	3,22
Blüten	0,49	0,31	0,77	0,20	1,37	1,71
Stengel u. Blätter u. Blüten	6,23	5,42	5,56	5,98	8,52	12,16
Ernte 28. 9.						
Wurzel	1	1	1	1	1	1
Stengel	2,98	3,04	2,84	3,50	5,14	4,47
Blätter	0,97	0,85	0,66	1,06	0,99	0,82
Blüten u. Früchte	0,68	0,97	0,97	0,42	2,01	1,79
Stengel u. Blätter u. Blüten	4,62	4,86	4,47	4,98	8,14	7,08

2. Der Anteil der einzelnen Organe (Abb. 2—5; Tabelle 6). Wie die Gesamtstoffproduktion ist bei den Tetraploiden auch der Trockensubstanzertrag der einzelnen Organe herabgesetzt, verhältnismäßig wenig bei Wurzeln und Blättern, stark aber bei Stengeln und Früchten. Zwischen den einzelnen Stämmen sind deutliche Unterschiede wahrzunehmen: Die *Inermis*-Tetraploiden weichen stärker von der Kontrolle ab, während

der Stamm 3310 wiederum ein mittleres Verhalten zeigt. Diese Ergebnisse stehen mit den morphologischen Beobachtungen im Einklang, die eine Verminderung des Stengelanteiles zeigten, und bestätigen die schon mit dem Auge erkennbare, noch ausführlich zu besprechende Herabsetzung der Fertilität.

Bei den Tetraploiden und auch bei den Diploiden nehmen während der Entwicklung die Gesamttrockensubstanz und ebenso die auf Wurzeln, Stengel und Früchte entfallenden Anteile zu, und zwar bis zum 4. 8. stärker als späterhin. Die entsprechenden Kurven für die Blätter zeigen bis zum 4. 8. einen starken Anstieg und fallen dann fast ebenso steil wieder ab. Dem Rückgang der Stoffproduktion entspricht eine Zunahme der Fruchttrockensubstanz, eine schwächere bei den Tetraploiden und eine stärkere bei den Diploiden. Das Blattsystem wird zur Zeit der Fruchtbildung besonders stark beansprucht. Ein Teil der im Blatt enthaltenen Stoffe wird den Früchten zugeführt, ein anderer Teil geht beim Blattfall verloren.

Bei den Tetraploiden ist also das Wurzelsystem nur geringfügig,

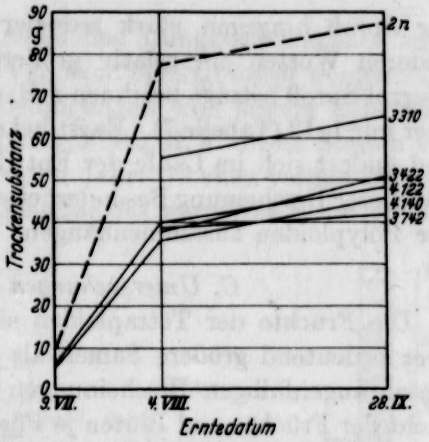


Abb. 1. Trockensubstanz je Pflanze: Gesamte Pflanze.

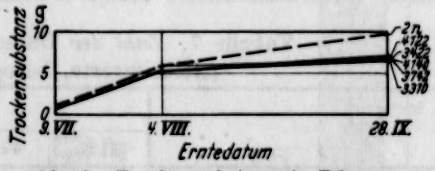


Abb. 2. Trockensubstanz je Pflanze: Wurzel.

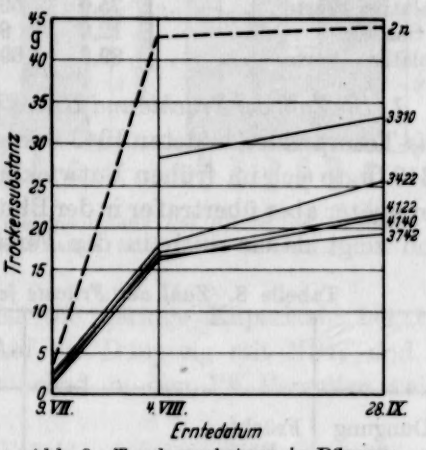


Abb. 3. Trockensubstanz je Pflanze: Stengel.

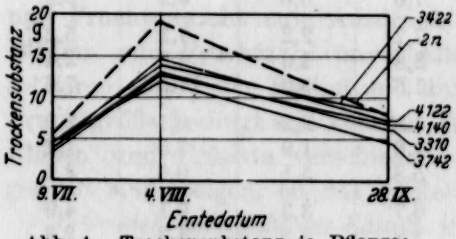


Abb. 4. Trockensubstanz je Pflanze: Blätter.

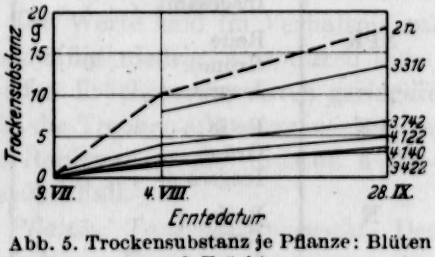


Abb. 5. Trockensubstanz je Pflanze: Blüten und Früchte.

der Sproß hingegen stark reduziert. Die Tetraploiden besitzen mit anderen Worten ein relativ größeres Wurzelsystem. Das Verhältnis Wurzel/Sproß beträgt bei ihnen z. B. am 4. 8. rund 1:6, bei den Diploiden aber nur 1:12 (Tabelle 7). Es ist bei den einzelnen Stämmen verschieden und ändert sich im Laufe der Entwicklung. Es war zu vermuten, daß mit dieser Erscheinung Besonderheiten in den physiologischen Leistungen der Polyploiden zusammenhängen.

C. Untersuchungen über die Fertilität.

Die Früchte der Tetraploiden sind kleiner und enthalten weniger, aber bedeutend größere Samen als die Früchte der Diploiden. Außer diesen augenfälligen Erscheinungen haben wir die Zahl sowie das Gewicht der Früchte und Blüten je Pflanze ermittelt und suchten an Hand des Düngungsversuches festzustellen, wie die Fertilität der Tetraploiden durch unterschiedliche Nährstoffversorgung beeinflußt wird.

Tabelle 7. *Zahl der Blüten und Früchte je Pflanze.*
(Relativwerte, bezogen auf $2n = 100$.)

	Stamm Nr.					
	4122	4140	3742	3422	3310	$2n$
2. Stadium	5,4	4,3	4,4	3,5	6,1	7,2
Relative Werte	75,0	59,7	61,2	48,6	84,8	100,0
3. Stadium	12,0	9,3	9,8	9,4	15,6	13,4
Relative Werte	89,8	69,4	73,0	70,0	116,5	100,0

1. Die Zahl der Früchte und Blüten je Pflanze (Tabelle 7 und 8). Alle *Inermis*-Tetraploiden bildeten 1943 weniger Früchte und Blüten. Der Stamm 3310 fügte sich im frühen Entwicklungsstadium noch in diesen Rahmen ein, später aber übertraf er in der Blüten- und Fruchtzahl die $2n$-Kontrolle und zeigt damit auch in der Fertilität sein abweichendes Verhalten.

Tabelle 8. *Zahl der Früchte je Pflanze.* (Düngungsversuch.)

		Stamm Nr.			
		4122	3742	3310	$2n$ iner.
Düngung 0	Früchte:				
	Reife	4,2	2,6	5,3	2,3
	Grüne	2,8	3,0	3,9	1,5
	Insgesamt	7,0	5,6	9,2	3,8
NPK	Reife	7,7	2,2	7,3	5,2
	Grüne	3,8	3,0	4,2	2,4
	Insgesamt	11,5	5,2	11,5	7,6
PK	Reife	4,8	3,2	6,1	2,9
	Grüne	1,0	1,9	3,5	1,2
	Insgesamt	5,8	5,1	9,6	4,1
N	Reife	6,7	3,3	9,1	4,9
	Grüne	3,8	3,5	4,3	2,3
	Insgesamt	10,5	6,8	13,4	7,2

Die an Pflanzen der NPK-Parzelle des Düngungsversuches angestellten Ermittlungen können zum Vergleich herangezogen werden. Der Stamm 4122 weist unter diesen Bedingungen eine höhere Zahl reifer und grüner Kapseln auf als die diploide Form, d. h. dieser Stamm verhält sich anders als im vorhergehenden Jahr. Ebenso verhält sich der Stamm 3310, während 3742 die Ergebnisse des Vorjahres bestätigt. Der Widerspruch kann damit zu erklären sein, daß die in Dürrezeiten durchgeführte künstliche Beregnung in Verbindung mit der Wirkung der Düngergabe bei den Tetraploiden erst die volle Entfaltung ihrer Anlagen ermöglicht hat.

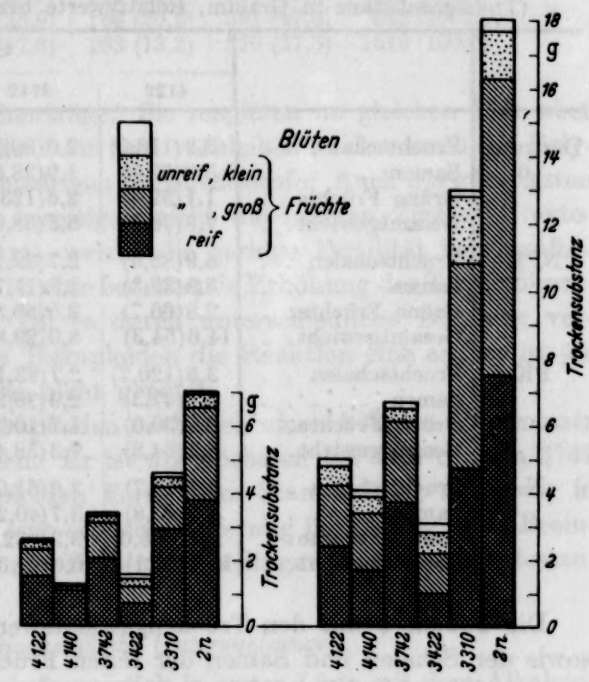


Abb. 6. Trockensubstanz der Blüten und Früchte je Pflanze. Stadium II und III.

Der Stamm 4122 entwickelte auch auf den anderen Parzellen eine größere Zahl von Früchten, reifen und unreifen, als die 2 *n*-Kontrolle. Der Stamm 3742, der auch 1943 eine geringere Zahl von Blüten und Früchten besaß als 4122, fällt im Düngungsversuch besonders durch den niedrigen Ertrag an reifen Kapseln auf. Überraschend ist die geringe Kapselzahl bei 2*n*-*Inermis* und die hohe bei 3310. Auf die Düngung mit NPK und N erfolgte eine positive Reaktion, während in den PK-Parzellen keine günstige Wirkung festzustellen ist.

2. Das Gewicht der Blüten und Früchte je Pflanze. Die verminderte Fertilität der Tetraploiden kommt noch deutlicher im geringen Blüten- und Fruchtgewicht zum Ausdruck. Die Werte sind im Verhältnis zur Blüten- und Fruchtzahl unverhältnismäßig niedrig, was durch einen größeren Anteil der Blüten und unreifen Früchte oder durch geringere Fruchtgröße bedingt sein könnte. Wie die Trockensubstanzgewichte der Blüten und Früchte verschiedenen Reifegrades, die in Abb. 6 dargestellt sind, zeigen, ist das letztere der Fall.

3. Gewicht und Zahl der Samen je Pflanze. Tausendkorngewicht. Der verminderten Fruchtzahl und dem niedrigen Fruchtgewicht entspricht

auch ein geringerer Samenertrag und infolge des erhöhten Tausendkorngewichtes eine sehr niedrige Samenzahl je Pflanze. Neben den ausgereiften Samen findet sich in der Kapsel der Tetraploiden zudem ein größerer Prozentsatz von unentwickelten sowie äußerlich normalen aber tauben Samen (Versuch 1943).

Tabelle 9. *Samen- und Fruchtgewicht.*
(Trockensubstanz in Gramm, Relativwerte bezogen auf $2n = 100$.)

		Stamm Nr.			
		4122	3742	3310	$2n$
Düngung 0	Fruchtschalen . .	2,9 (116,0)	2,0 (80,0)	5,1 (204,0)	2,5 (100,0)
	Samen	3,9 (59,0)	1,9 (28,8)	5,7 (86,3)	6,6 (100,0)
	Grüne Früchte. .	1,1 (52,4)	2,6 (123,8)	2,8 (133,3)	2,1 (100,0)
	Gesamtgewicht. .	7,9 (70,5)	6,5 (58,0)	13,6 (121,4)	11,2 (100,0)
NPK	Fruchtschalen . .	5,9 (85,5)	2,7 (39,1)	9,7 (140,5)	6,9 (100,0)
	Samen	5,9 (37,3)	2,8 (17,7)	8,8 (55,7)	15,8 (100,0)
	Grüne Früchte. .	2,8 (66,7)	2,5 (59,5)	4,3 (102,5)	4,2 (100,0)
	Gesamtgewicht. .	14,6 (54,3)	8,0 (29,8)	22,8 (84,8)	26,9 (100,0)
PK	Fruchtschalen . .	3,5 (120,7)	2,7 (93,1)	5,6 (193,1)	2,9 (100,0)
	Samen	3,8 (47,5)	2,9 (36,3)	4,6 (57,5)	8,0 (100,0)
	Grüne Früchte. .	0,8 (50,0)	1,7 (106,2)	3,2 (200,0)	1,6 (100,0)
	Gesamtgewicht. .	8,1 (64,8)	7,3 (58,4)	13,4 (107,2)	12,5 (100,0)
N	Fruchtschalen . .	4,7 (79,7)	3,6 (61,0)	9,2 (155,9)	5,9 (100,0)
	Samen	4,4 (47,8)	3,7 (40,2)	8,9 (96,7)	9,2 (100,0)
	Grüne Früchte. .	2,7 (108,0)	3,3 (132,0)	4,1 (164,0)	2,5 (100,0)
	Gesamtgewicht. .	11,8 (67,1)	10,6 (60,3)	22,2 (126,1)	17,6 (100,0)

Die Tabelle 9 mit den Trockengewichtswerten der grünen Früchte sowie der Schalen und Samen der reifen Früchte aus dem Düngungsversuch bekräftigt dieses Ergebnis: Die Stämme 4122 und 3742, aber auch 3310 liefern bedeutend niedrigere Samenerträge als die diploide Kontrolle. Das trifft für alle Arten der Düngung zu. Eine gesicherte unterschiedliche Reaktion auf die Düngung zeigen auch hier die $4n$- und $2n$-Stämme nicht. Die Mindererträge von Stamm 4122 sind auffällig, da er doch mehr Früchte bildet, aber der Samenertrag von $2n$ liegt *sehr viel* höher, und das Gewichtsverhältnis Fruchtschale/Samen beträgt bei den Tetraploiden rund 1:1, bei $2n$ aber nur 1:2 und weniger. Die Kapseln der Tetraploiden sind zur Zeit der Fruchtreife noch fleischig und dick.

Auch die Zahl der Samen ist im Düngungsversuch stark vermindert (Tabelle 10). Die *Inermis*-Tetraploiden erzielen unter den verschiedenen Bedingungen der Nährstoffversorgung im Höchstfall $^1/_4$ bzw. $^1/_5$ des Samenertrages der Diploiden. 3310 hat auf den O- und PK-Parzellen halb so viel Samen wie $2n$-*Inermis* angesetzt. Die Tetraploiden können also die günstigen Ernährungsbedingungen der NPK- und N-Parzelle nicht so gut ausnutzen wie $2n$-*Inermis*, bringen aber auf diesen Parzellen

Tabelle 10. *Samenzahl je Pflanze.*
(Relativwerte bezogen auf $2n = 100$.)

	Stamm Nr.			
	4122	3742	3310	$2n$
Düngung				
O . . .	192 (26,3)	102 (14,0)	337 (46,1)	731 (100,0)
NPK . .	327 (20,9)	172 (11,0)	504 (32,1)	1568 (100,0)
PK . .	213 (25,9)	166 (20,2)	391 (47,6)	822 (100,0)
N . . .	268 (17,6)	202 (13,3)	570 (37,5)	1519 (100,0)

auch die höchsten Samenerträge. Sie reagieren im gleichen Sinn aber schwächer als die diploide Form und verbleiben in der durch die Polyploidisierung bewirkten niedrigen Fertilitätsstufe. Auch die günstigsten Ernährungsbedingungen beseitigen nicht die inneren Zustände (cytologischer und anderer Art), welche die geringe Fertilität hervorrufen. In beiden Feldversuchen ist eine bedeutende Erhöhung des Tausendkorngewichtes festzustellen. Ob es durch unterschiedliche Düngung verändert wird und bei den Tetraploiden die Reaktion eine andere ist als bei den Diploiden, wurde nicht geprüft.

Die Kapseln der Tetraploiden enthalten einen höheren Prozentsatz funktionsunfähiger Samen. Er ist am höchsten bei dem Stamm 3742 und nähert sich der diploiden Form beim Stamm 3310, und zwar in beiden Jahren, was auf eine erbliche Fixierung hindeutet. Eine Beeinflussung durch wechselnde Ernährungsbedingungen ist nicht festzustellen.

D. Biochemische Untersuchungen.

Die Untersuchungen befassen sich in erster Linie mit dem Alkaloidgehalt. Wir haben den durchschnittlichen Gehalt der Pflanzen und den Gehalt der einzelnen Organe, der Wurzeln, Stengel, Blätter und Früchte bestimmt. Aus diesen Prozentzahlen und den zugehörigen Stofferträgen wurden die Alkaloiderträge ermittelt und damit Unterlagen für die praktische Bewertung der Polyploiden gewonnen. Die Ergebnisse warfen neue Fragen auf und veranlaßten uns, auch Stickstoff-, Kohlenhydrat-, Asche- und Rohfaserbestimmungen durchzuführen.

1. Der Alkaloidgehalt. Im Alkaloidgehalt sind alle $4n$-Stämme der $2n$-Form überlegen. Dies trifft für die ganze Pflanze zu, aber auch für alle ihre Organe (Abb. 7—10). Die stärkste Konzentration ist in den Blättern anzutreffen, sie kann hier das Doppelte bis Dreifache des normalen Gehaltes betragen. Während der Alkaloidgehalt in Wurzeln und Stengeln im Laufe der Entwicklung zurückgeht, steigt er in den Blättern bis zum Abschluß der Vegetationsperiode an. Durch einen höheren, mit fortschreitender Entwicklung abnehmenden Alkaloidgehalt sind auch die Früchte der Tetraploiden gekennzeichnet.

Vom Düngungsversuch wurden nur die Blätter untersucht, und zwar getrennt nach Spreiten und Stielen. Die Ergebnisse sind durch die Kriegsereignisse bis auf eine Wiederholung (Tabelle 11) verlorengegangen, doch gibt diese das Gesamtergebnis wieder, da alle Wiederholungen, wie damals festgestellt wurde, dasselbe Bild ergaben: Tetraploide und Diploide reagieren gleichartig auf unterschiedliche Düngung und bei

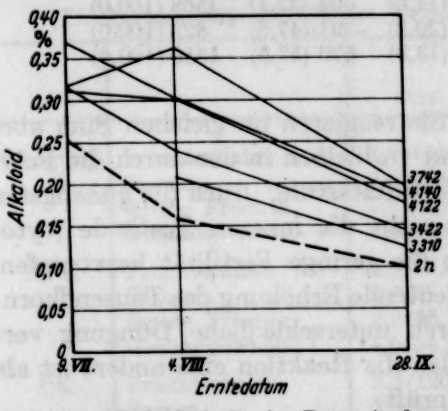


Abb. 7. Alkaloidgehalt in Prozent der Trockensubstanz: Durchschnittlicher Gehalt der ganzen Pflanze.

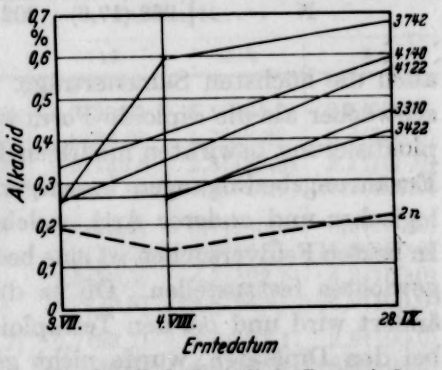


Abb. 8. Alkaloidgehalt in Prozent der Trockensubstanz: Blätter.

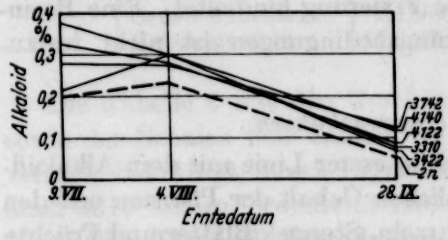


Abb. 9. Alkaloidgehalt in Prozent der Trockensubstanz: Wurzel.

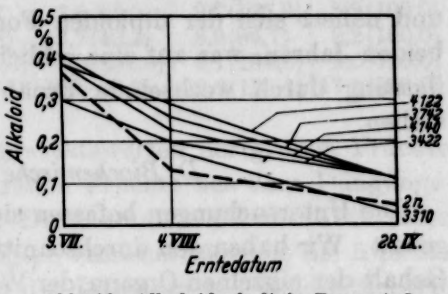


Abb. 10. Alkaloidgehalt in Prozent der Trockensubstanz: Stengel.

beiden wird der Alkaloidgehalt unter den gegebenen Bedingungen nur unwesentlich durch die Nährstoffversorgung beeinflußt.

Der Alkaloidgehalt erreicht im Düngungsversuch nicht die Höhe des Vorjahres, doch kommt der Unterschied zwischen Tetraploiden und Diploiden ebenso scharf zum Ausdruck. Die Spanne ist bei den Spreiten größer als bei den Stielen. Die Blattstiele enthalten im Vergleich zu den Spreiten sehr viel mehr Alkaloid, was offenbar mit dem unterschiedlichen Wassergehalt zusammenhängt. Das Alkaloid ist im Zellsaft gelöst, kann also in Gewebe mit hohem Wassergehalt und großen Vakuolen, wie es im sukkulenten Blattstiel vorliegt, stärker angehäuft werden als im wasserarmen Gewebe.

Tabelle 11. *Alkaloidgehalt und -ertrag von Blättern im Düngungsversuch.*

Stamm Nr.	Düngung	Blattstiele		Blattspreiten		Stiele und Spreiten
		% Alkaloid in Trockensubstanz	g Alkaloid von 100 Pflanzen	% Alkaloid in Trockensubstanz	g Alkaloid von 100 Pflanzen	g Alkaloid von 100 Pflanzen
4122	O	1,52	2,47	0,31	3,20	5,67
3742		1,52	2,54	0,57	5,74	8,28
3310		1,68	0,71	0,30	1,86	2,57
2*n*		1,48	1,11	0,17	1,14	2,25
4122	NPK	1,60	5,48	0,31	7,79	13,27
3742		1,64	3,91	0,60	9,38	13,29
3310		1,56	1,17	0,27	3,65	4,82
2*n*		1,32	1,85	0,16	3,45	5,30
4122	PK	1,60	1,64	0,33	3,20	4,84
3742		1,88	2,47	0,39	4,33	6,80
3310		1,80	0,50	0,21	1,34	1,84
2*n*		1,42	1,02	0,19	1,34	2,36
4122	N	1,84	2,02	0,45	4,47	6,49
3742		1,30	2,99	0,41	7,75	10,74
3310		1,00	0,45	0,26	2,11	2,56
2*n*		1,48	2,78	0,18	3,27	6,05

2. Der Alkaloidertrag. Die vom Alkaloidgehalt und der Stoffproduktion bestimmten Alkaloiderträge (Abb. 11—15) liegen bei den Wurzeln nur wenig über denen der 2*n*-Kontrolle. Das Umgekehrte ist bei den Stengeln der Fall, während die Blätter der Tetraploiden wieder die größeren Erträge bringen, und zwar ergeben sich Mehrausbeuten von 52—174%. Bei allen drei Organen und ebenso bei der ganzen Pflanze nimmt der Alkaloidertrag nur bis Anfang August (4. 8.) zu, im Verlauf der weiteren Entwicklung nimmt er wieder ab. Die in den reproduktiven Organen enthaltenen Mengen vermehren sich stetig bis zur Reife. Der niedrigen Fruchttrockensubstanz bei den 4*n*-Pflanzen entspricht auch ein geringerer Alkaloidertrag der Früchte. Die Kurven für den Alkaloidertrag von 4*n*- und 2*n*-Pflanzen zeigen also lediglich bei Blättern und Früchten einen abweichenden Verlauf, der bei den ersteren durch den besonders hohen Alkaloidgehalt, bei den letzteren durch den geringen Fruchtertrag der 4*n*-Pflanzen zustande kommt.

Der Alkaloidertrag wird sehr stark von der Nährstoffzufuhr beeinflußt, wie die Ergebnisse des Düngungsversuches (Tabelle 11) zeigen. Volldüngung bewirkt den höchsten Gesamtertrag und diesem entspricht auch der höchste Alkaloidertrag. Die Mehrausbeute bei den Tetraploiden gegenüber der diploiden Form beträgt hier rund 150%. Dieses Ergebnis stimmt mit den Zahlen des vorjährigen Versuches gut überein.

3. Der Kohlenhydratgehalt. Mit den Kohlenhydratbestimmungen hatten wir soeben begonnen, als die experimentellen Arbeiten infolge der

Kriegsereignisse eingestellt werden mußten. Es konnten vom ersten Feldversuch die Blätter der 3. Ernte auf lösliche Kohlenhydrate und Stärke untersucht werden und vom Düngungsversuch die Blätter auf Stärke. Vorhanden sind nur noch die Ergebnisse vom ersten Versuch (Tabelle 12). Sie zeigen, daß die

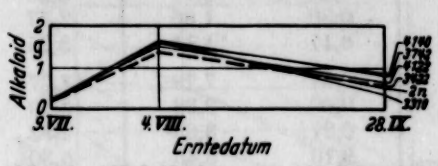


Abb. 11. Alkaloidertrag von 100 Pflanzen: Wurzeln.

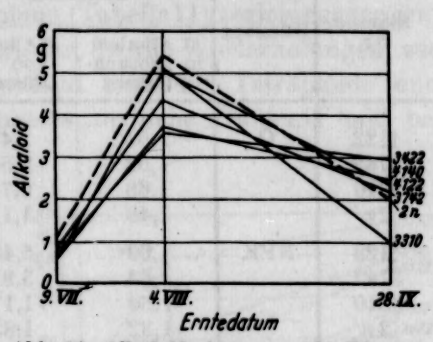


Abb. 12. Alkaloidertrag von 100 Pflanzen: Stengel.

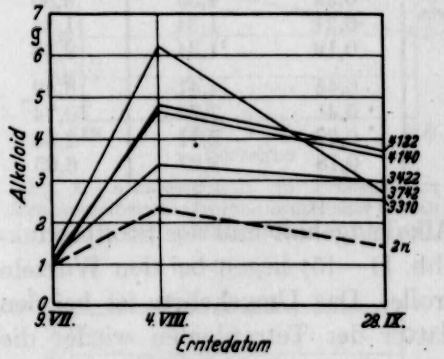


Abb. 13. Alkaloidertrag von 100 Pflanzen: Blätter.

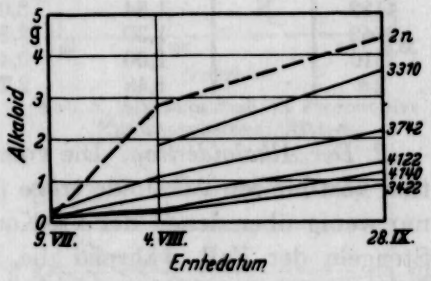


Abb. 14. Alkaloidertrag von 100 Pflanzen: Blüten und Früchte.

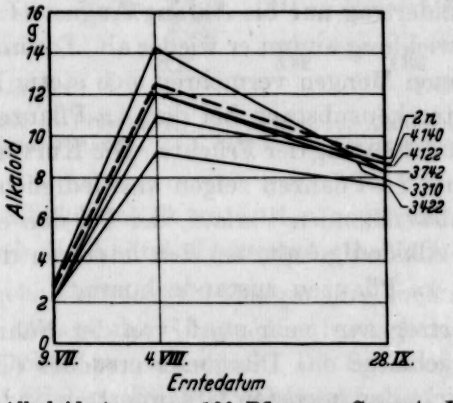


Abb. 15. Alkaloidertrag von 100 Pflanzen: Gesamte Pflanzen.

Inermis-Tetraploiden im Vergleich zur diploiden Form weniger Mono- und Disaccharide und weniger Stärke enthalten. Einen niedrigeren Stärkegehalt zeigten auch die Blätter der Tetraploiden im Düngungsversuch, und zwar bei allen Düngungsarten.

4. Der Mineralstoffgehalt. Vorhanden sind nur noch die Ergebnisse einer Wiederholung des 1. Versuches (Tabelle 13). Aus der Erinnerung kann aber berichtet werden, daß die anderen Wiederholungen und der Düngungsversuch grundsätzlich dieselben Ergebnisse gebracht hatten: Die Blätter der Tetraploiden enthalten in allen Entwicklungsstadien und unter allen Bedingungen der Nährstoffversorgung mehr Asche als die Blätter der Diploiden. Der Plan, die einzelnen Komponenten der Gesamtasche zu analysieren, hat sich nicht mehr verwirklichen lassen.

Tabelle 12. *Kohlenhydratgehalt der Blätter in Prozent der Trockensubstanz.* (Feldversuch 1943, III. Ernte.)

Stamm Nr.	Lösliche Zucker		Stärke	Gesamtkohlenhydrate
	vor	nach Inv.		
4122	3,96	7,00	12,00	19,00
4140	4,45	8,85	10,43	19,28
3742	3,94	6,54	10,42	16,96
2n	4,95	9,90	14,38	24,28

5. Der Stickstoff- und Eiweißgehalt. Die höheren Aschegehalte der Tetraploiden können durch ein gesteigertes Aufnahmevermögen für Mineralstoffe zustande kommen. Diese Überlegung gab den Anlaß, auch den Stickstoff- und Eiweißgehalt in die Untersuchungen, die aber ebenfalls nicht abgeschlossen werden konnten, einzubeziehen. Die nicht mehr vorhandenen Ergebnisse ergaben kein klares Bild: Die Blätter der Tetra- und Diploiden unterscheiden sich nur wenig oder überhaupt nicht im N- und Eiweißgehalt. Meist zeigten die Tetraploiden um 5—8% höhere Gehalte, in etwa 30% der Bestimmungen lagen keine Unterschiede vor oder ergaben sich sogar geringere Werte für die Tetraploiden. Diese Befunde an Blättern können aber nicht als Beweis gegen die vermutete stärkere N-Aufnahme der Tetraploiden gelten, da die N-Verbindungen nicht wie bestimmte andere Mineralstoffe in den Blättern angehäuft, sondern unmittelbar nach ihrer Bildung an andere Stellen abgeleitet werden. Analysen der Gesamtpflanzen, von denen ein Aufschluß zu erwarten war, konnten nicht mehr durchgeführt werden.

Tabelle 13. *Aschegehalt der Blätter in Prozent der Trockensubstanz.* Feldversuch 1943.

Stamm Nr.	I. Stadium	II. Stadium	III. Stadium
4122	18,86	11,76	14,47
4140	17,91	—	14,17
3242	18,55	13,84	17,23
2*n*	17,00	10,45	10,75

E. Physiologische Untersuchungen.

Die geringe Stoffproduktion der Tetraploiden in Verbindung mit dem niedrigeren Kohlenhydratgehalt der Blätter legte eine Untersuchung der Assimilations- und Atmungsintensität nahe, und der höhere Aschegehalt lenkte die Aufmerksamkeit auf die Transpiration, von deren

Intensität die Mineralstoffaufnahme und damit auch der Aschegehalt in den Organen weitgehend bestimmt wird. Ferner haben wir geprüft, ob sich isolierte Wurzelspitzen von Tetra- und Diploiden im Alkaloidbildungsvermögen unterscheiden und ob in diesem Zusammenhang das Arginin, ein wesentlicher Bestandteil des Kerneiweißes und die vermutliche Muttersubstanz der Tropabasen, eine Rolle spielt.

Tabelle 14. *Assimilationsversuche.*
Trockensubstanzzunahme in mg/100 cm² Blattfläche.

Nr.	Datum	Zeit	2 *n*	4 *n*	Differenz in % von 2 *n*
1	20. 9. 43	12—16 Uhr	68	79 (St. 4122)	+16
2	23. 9. 43	12—16 Uhr	100	108 (St. 3742)	+ 8

1. Die Assimilationsintensität. Die am 20. und 23. 9. durchgeführten Versuche ergaben bei den Tetraploiden Mehrzunahmen an Trockensubstanz von 16 bzw. 8% (Tabelle 14). Die sehr niedrigen absoluten

Tabelle 15. *Atmungsversuche.*
Ausgeschiedenes CO_2 in g/100 g Trockensubstanz.

Nr.	Datum	Zeit	2 *n*	4 *n*	Differenz in % von 2 *n*
1	19. 9. 43	10—16 Uhr	0,362	0,416 (St. 4122)	+15
2	21. 9. 43	10—16 Uhr	0,540	0,653 (St. 4122)	+21
3	24. 9. 43	10—16 Uhr	0,530	0,572 (St. 3742)	+ 8
4	25. 9. 43	10—16 Uhr	0,552	0,590 (St. 3742)	+10

Werte sind offenbar auf die verhältnismäßig geringe Lichtmenge, die den Blättern während des 4stündigen Versuches zur Verfügung stand, zurückzuführen. Er wurde bei offener Bewölkung durchgeführt, und zur Vermeidung zu großer Wasserverluste der Blätter mußten die Schalen zeitweilig mit Glas abgedeckt werden. Wenn auch den Ergebnissen aus diesen Gründen kein großes Gewicht beigemessen werden darf, so deuten sie doch an, daß die Tetraploiden sicherlich nicht schwächer, sondern eher stärker assimilieren als die Diploiden. Die geringere Stoffproduktion und die niedrigeren Kohlenhydratgehalte sind also wahrscheinlich nicht durch eine Herabsetzung der Assimilationsfähigkeit bedingt.

2. Die Atmungsintensität. Es wurden insgesamt 4 Versuche mit je 2mal 50 Blättern durchgeführt, die ersten beiden während einer Schönwetter- und die anderen während einer Regenperiode. Es standen also offenbar einmal kohlenhydratreiche und das andere Mal kohlenhydrat-

arme Blätter zur Verfügung. Das Vergleichsmaterial, das für die genaue Ermittlung des Kohlenhydratgehaltes vor und nach dem Versuch vorgesehen war, ist leider verlorengegangen, bevor es analysiert werden konnte. Wir haben als Bezugsgröße die Trockensubstanz gewählt, doch ändert sich am Ergebnis grundsätzlich nichts, wenn man auf Frischsubstanz oder Oberfläche bezieht. Die Oberfläche ist in diesem Fall als Bezugsgröße aber ungeeignet, da die zu vergleichenden Blätter verschiedene Dicke besitzen.

In allen 4 Versuchen schieden die Tetraploiden mehr CO_2 aus, und zwar um 15 und 21 bzw. 8 und 10%. Die Tetraploiden atmen demnach stärker als die Diploiden keineswegs besitzen sie eine geringere Atmungsintensität (Tabelle 15).

3. Die Transpiration. In den insgesamt 4 durchgeführten Versuchen haben die Tetraploiden 5—16% mehr Wasser ausgeschieden als die Diploiden (Tabelle 16). Die morphologischen und anatomischen Besonderheiten der Blätter von *Datura*-Polyploiden setzen also die Transpiration nicht herab, sondern begünstigen sie sogar etwas. Da infolge des relativ größeren Wurzelsystems die Wasseraufnahme erleichtert sein dürfte, ist anzunehmen, daß auch die $4n$-Pflanzen stärker transpirieren als die $2n$-Pflanzen.

Tabelle 16. *Transpirationsversuche.* Gramm transpiriertes Wasser/100 cm² Blattfläche[1].

Nr.	Dauer	$2n$	$4n$	Differenz in % von $2n$
1	24. 8. 43	12,24	14,57 (St. 3742)	+15,8
2	27. 8. 43	18,62	19,58 (St. 3422)	+ 5,1
3	30. 8. 43	15,60	17,97 (St. 4122)	+15,2
4	3. 9. 43	14,81	17,00 (St. 3742)	+14,8

[1] Die Dauer der einzelnen Versuche ist aus den verbliebenen Unterlagen nicht mehr zu ersehen.

4. Argininbestimmungen. Alkaloidbildung in isolierten Wurzelspitzen. Wenn man fragt, wie die höhere Alkaloidkonzentration in den Zellen der Tetraploiden zustande kommt, so wird man zunächst zu prüfen haben, ob ein direkter Zusammenhang zwischen der Vermehrung von Zellkernsubstanz und Alkaloid besteht.

Zu den Baustoffen des Zellkernes gehören die Nukleoproteide, für die unter anderem ein höherer Gehalt an basischen Aminosäuren charakteristisch ist. Eine dieser Aminosäuren, das Arginin, kann nach den Vorstellungen von Robinson (17) als die Muttersubstanz der Tropabasen aufgefaßt werden. Danach könnte man die Tropabasen für Produkte des Kernstoffwechsels halten. Wir haben mit den gegen Kriegsende durchgeführten Untersuchungen noch nicht entscheiden können, ob diese Hypothese zutrifft. Nach unseren Ergebnissen unterscheiden sich tetraploide und diploide Gewebe nicht im Arginingehalt, wenn man auf Trockensubstanz bezieht. Die Trockensubstanz ist aber eine zweifelhafte Bezugsgröße, wenn es darauf ankommt, feine Differenzen

festzustellen, da offenbar noch andere Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung von Tetra- und Diploiden vorliegen. Noch weniger kommen die anderen üblichen Bezugsgrößen wie Frischsubstanz, Oberfläche oder Rohfaser in Frage. Gewebekulturen mit Wurzelspitzen und Sproßteilen auf Nährlösung mit und ohne Arginin haben kein eindeutiges Ergebnis erbracht: Sproßteile bildeten kein Alkaloid, während in den Wurzelkulturen wohl eine mit dem Wachstum konform gehendeAlkaloidzunahme zu erkennen war, aber keinerlei Unterschied zwischen tetra- und diploidem Gewebe und keinerlei Abhängigkeit vom Arginingehalt des Nährbodens. Als Nährlösung wurde die von WHITE (4) abgewandelte USPENSKI-Lösung mit 2% Zucker, der in einem Fall 0,01% Argininhydrochlorid zugesetzt war, benutzt. Zur Bestimmung der äußerst geringen Alkaloidmengen diente die in Anlehnung an ALLPORT und WILSON entwickelte kolorimetrische Mikromethode. Die Wurzelspitzen stammten von *Datura*-Keimlingen und von älteren in Wurzelkästen angezogenen Pflanzen.

III. Besprechung der Ergebnisse.

Die Genomverdoppelung löst bei *Datura tatula* eine große Zahl von Polyploidie-Effekten aus. Mit den vorliegenden Untersuchungen werden Besonderheiten der morphologischen und anatomischen Struktur, des Ertrages, der Fertilität, der chemischen Zusammensetzung und der stoffwechselphysiologischen Leistungen herausgestellt: Die Zahl und Länge der Seitenzweige ist bei den Tetraploiden verringert, ebenso die Anzahl der Blätter je Pflanze. Die Blattlamina ist breiter und größer, außerdem ist sie verdickt und stark gewellt. Diese morphologischen Besonderheiten bedingen den abweichenden Habitus der Tetraploiden, ihre niedrige und buschige Wuchsform. Das Volumen der Zellen ist vergrößert und die Zahl der Spaltöffnungen je Flächeneinheit reduziert. Die tetraploiden Pflanzen sind weniger ertragreich, d.h. sie produzieren weniger Masse als die Diploiden. Von dieser Ertragsminderung sind alle Organe der Pflanze betroffen, doch ist ihr Ausmaß bei den einzelnen Organen verschieden. So wird das Verhältnis Wurzel/Sproß durch die Genomverdoppelung zugunsten der Wurzel verschoben. Die Tetraploiden bilden weniger Früchte und Blüten, und die Früchte sind kleiner und enthalten weniger, aber größere Samen. Der Alkaloidgehalt ist in allen Organen vermehrt, besonders stark in den Blättern, die auch die höheren Alkaloiderträge bringen. In den Blättern der Tetraploiden wurden weniger lösliche Kohlenhydrate und weniger Stärke, aber mehr Mineralstoffe gefunden. Assimilations-, Atmungs- und Transpirationsintensität sind nach den vorliegenden Ergebnissen bei den Tetraploiden gesteigert.

Viele dieser Effekte sind bereits bekannt. So haben insbesondere die morphologischen Untersuchungen und auch die anatomischen Beobachtungen keine neuen Befunde und Gesichtspunkte erbracht. Auch die Ertragsminderung und die Herabsetzung der Fertilität sind bekannte Folgeerscheinungen der Polyploidisierung. Die Organvergrößerung wird als eine Folge der Zellvergrößerung aufgefaßt, und das geringere Wachstum und die damit einhergehende Ertragsminderung führt man auf einen langsameren Ablauf der Zellteilungen zurück. Wie die Untersuchung der einzelnen Organe gezeigt hat, ist nun aber die Entwicklung der Tetraploiden nicht genau das verkleinerte Abbild der Diploiden. Der durch die Polyploidisierung hervorgerufene Zustand wirkt sich auch auf den Differenzierungsprozeß aus und bewirkt in diesem Fall, daß kürzere Achsen, weniger Verzweigungen, ein relativ größeres Wurzelsystem usw. gebildet werden. Die Ursachen der stark verminderten Fertilität sieht man in der Regel in cytologischen Störungen, die bei der Reduktionsteilung und bei der Befruchtung auftreten. Es liegt auf der Hand, daß diese „direkteren" Folgen der Polyploidisierung sekundäre Erscheinungen auslösen.

Als eine unmittelbare Folge der Genomverdoppelung glaubten wir zunächst auch die Erhöhung des Alkaloidgehaltes bei den Tetraploiden auffassen zu müssen, zumal die ersten Analysen Werte ergaben, die etwa einer Verdoppelung des Alkaloidgehaltes entsprachen. Dieser Befund schien anzudeuten, daß die Tropabasen Produkte des Kernstoffwechsels, und zwar Umwandlungsprodukte des im Kerneiweiß reichlich enthaltenen Arginins darstellen. Vergleichende Argininbestimmungen in tetra- und diploidem Gewebe haben jedoch diese Vermutung nicht stützen können. Sie ergaben keinerlei Unterschiede im Argiringehalt. Diese Versuche schließen aber nicht aus, daß sich die vermutlich geringen Differenzen dem Nachweis entzogen haben, zumal auch keine befriedigende Bezugsgröße gefunden werden konnte. Wir haben deshalb weiter geprüft, ob die nach den Untersuchungen von Mothes und Kretschmer (13) zu erwartende Alkaloidbildung in isolierten wachsenden Wurzeln bei Tetraploiden und Diploiden unterschiedlich verläuft und eine Abhängigkeit vom Argiringehalt der Nährlösung festzustellen ist, fanden aber keine Anhaltspunkte dafür, daß die Intensität der Alkaloidbildung von der Zahl der Genome abhängt, und auch die Anwesenheit von Arginin hatte in unseren Versuchen keinen Einfluß darauf. Es kann sich aber auch hier um sehr kleine Unterschiede handeln, deren Erfassung die von uns angewandte, noch mit Mängeln behaftete Mikromethode nicht erlaubte. Die Arbeitshypothese, die eine Entstehung der Alkaloide im Kernstoffwechsel annimmt, kann aus diesen Gründen noch nicht als widerlegt gelten. Die geplanten weiteren Versuche, die eine Entscheidung herbeiführen sollten, konnten infolge der Kriegsereignisse

nicht in Angriff genommen werden, und auch späterhin bot sich keine Mögliehkeit dazu. Diese Versuche haben aber die Aufmerksamkeit auf die Wurzel gelenkt und zu neuen Gesichtspunkten geführt. Nach MOTHES und HIEKE (12) sowie DAWSON (3), MOSKOV und SMIRNOVA (11) werden die Alkaloide überwiegend, wenn nicht ausschließlich in der Wurzel gebildet und von dieser aus mit dem aufsteigenden Saftstrom den oberirdischen Organen zugeführt. Bei der Herausarbeitung der morphologischen Unterschiede hatte sich ergeben, daß die Tetraploiden ein relativ größeres Wurzelsystem ausbilden. Das Verhältnis Wurzel/Sproß ist bei ihnen maximal 1:6, bei den Diploiden aber nur 1:12. Das in der Wurzel gebildete Alkaloid verteilt sich bei den Tetraploiden also auf eine relativ kleinere oberirdische Stoffmasse und bewirkt die beobachtete höhere Alkaloidkonzentration. Die Steigerung des Alkaloidgehaltes infolge Polyploidisierung wäre demnach eine sekundäre Erscheinung, hervorgerufen durch die Abänderung des Verhältnisses Wurzel/Sproß, die als primärer Polyploidie-Effekt festzustellen ist, wobei die Bezeichnung primär nur bedeutet, daß es sich um das erste erkennbare Glied der Kausalkette Genomverdoppelung-Alkaloidvermehrung handelt. Der geringere Sproßanteil der Tetraploiden kommt hauptsächlich durch die Verkürzung der Achsen und den niedrigeren Fruchtertrag zustande. Insofern ist der gesteigerte Alkaloidgehalt der Tetraploiden zum Teil die Folge ihrer verminderten Fertilität.

Da die Alkaloide mit dem Transpirationsstrom wandern, erklärt sich ihre Anhäufung in den Transpirationsorganen, den Blättern. Auch die verhältnismäßig hohen Gehalte der Früchte lassen sich auf dieser Grundlage erklären: Die für die Fruchtbildung notwendigen Stoffe werden aus den Blättern zugeleitet. Mit diesen aber strömen die in den Blättern reichlich vorhandenen Alkaloide ein und häufen sich in den Früchten an. SANDFORT (19) und wir selbst haben bei feuchtem Wetter eine Abnahme des Alkaloidgehaltes der Blätter beobachten können. Die Auswaschung von Alkaloid ist sicherlich nicht die alleinige Ursache dieser Erscheinung. Bei regnerischem Wetter ist die Transpiration gehemmt, damit aber auch die Einwanderung von Alkaloid in die oberirdischen Organe, nicht, oder nicht im gleichen Maß behindert ist die Wanderung von Assimilaten in die wachsenden Früchte.

Die Früchte kommen als Bildungsstätten der Alkaloide nicht in Frage, da die vorliegenden Ergebnisse keine Beziehungen zwischen Frucht- und Alkaloidertrag erkennen lassen: Der Alkaloidertrag nimmt mit zunehmendem Fruchtertrag nicht zu. Für einen nebenherlaufenden Alkaloidabbau ergaben sich keine Anhaltspunkte und auch der Rückgang des Alkaloidertrages gegen Ende der Vegetationsperiode hat wahrscheinlich nichts mit einem Abbau zu tun, sondern ist die Folge von Alkaloidauswaschung und Blattfall.

Die Theorie von der Entstehung der Alkaloide in der Wurzel erklärt also alle Befunde über den Alkaloidgehalt, und in Verbindung mit der Feststellung eines vergrößerten Wurzelsystems bei den Tetraploiden macht sie auch deren gesteigerten Alkaloidgehalt verständlich. Alle bisherigen Feststellungen, die die Alkaloidbildung in die Blätter oder in die Vegetationspunkte verlegen, befriedigen nicht, da sie viele Befunde nicht erklären können, und schon die vielen Widersprüche früherer Untersuchungen wiesen darauf hin, daß ein sehr wesentlicher Faktor des Alkaloidstoffwechsels noch unbekannt war. In diesem Sinn bedeuten unsere Ergebnisse eine Bestätigung dieser neuen Theorie.

Der auf dem Feld durchgeführte Düngungsversuch ließ erkennen, daß der Alkaloidgehalt von der Nährstoffversorgung kaum beeinflußt wird. Wir haben auch *Datura*-Pflanzen in Mitscherlich-Gefäßen und Wurzelkästen kultiviert, um unter anderem Aufschluß über den Bildungsort innerhalb der Wurzel zu erhalten. In allen diesen Fällen lag der Alkaloidgehalt so extrem niedrig, daß er mit unserer doch immerhin sehr empfindlichen Methode kaum erfaßt werden konnte. Das war auch bei bester Nährstoffversorgung der Fall und in großen Wurzelkästen ($1^1/_2$ m hoch), die ein kräftiges Wachstum der Wurzel ermöglichten. Die Alkaloidproduktion hängt also offenbar noch von Bedingungen ab, die in diesen Versuchen nicht erfüllt waren. Wir hatten geplant, verschiedene Bodenarten zu prüfen und vor allem auch die Bodenflora zu berücksichtigen. Alle Pflanzen dieser Versuche zeigten eine sehr üppige oberirdische Entwicklung, während, möglicherweise infolge räumlicher Beengung oder zu günstiger Bedingungen des Wasser- und Nährstofferwerbs, das Wurzelsystem doch nicht entsprechend ausgebildet war. Eine Aufarbeitung der Versuche unter diesen Gesichtspunkten war leider nicht mehr möglich. Andererseits wurden im ersten Jahr extrem hohe Werte gefunden, für die Blätter diploider Pflanzen rund 0,5 und die Blätter von Tetraploiden bis zu 1,0%, und zwar von Pflanzen, die im Gewächshaus angezogen und später im Mistbeet weiter kultiviert worden waren. Diese Pflanzen waren im Vergleich zu dem später untersuchten Freilandmaterial kleiner. Die Tetraploiden zeigten die äußerlich wahrnehmbaren Polyploidie-Merkmale besonders ausgeprägt.

Unsere Befunde über den erhöhten Alkaloidgehalt bei den polyploiden *Datura*-Stämmen sind inzwischen bestätigt worden. ROWSEN (16) konnte bei *Datura* und darüber hinaus bei *Atropa*- und *Hyoscyamus*-Arten einen Anstieg des Alkaloidgehaltes in den Blättern als Folge der Polyploidisierung durch Colchicinbehandlung feststellen. Von dem Anstieg sind Hyoscyamin und Scopolamin (Hyoscin), wie die gleichbleibende prozentische Zusammensetzung zeigt, im gleichen Ausmaß betroffen. Über einen gesteigerten Alkaloidgehalt in autotetraploiden Stämmen von *Atropa Belladonna* und allotetraploiden Formen von

Nicotiana hatten bereits vorher SZOMOLANYI (24) bzw. KOSTOFF (8) berichtet.

Aus dem schwächeren Wuchs und dem größeren Zellvolumen ist zu ersehen, daß auch die *Datura*-Tetraploiden aus weniger Zellen aufgebaut sind und die Folge der Zellteilungen verlangsamt sein muß. Wie kommt dieser Effekt, der auf das engste mit der praktisch so wichtigen Ertragsminderung verbunden ist, zustande? Die geringeren Kohlenhydratgehalte, die wir für die Blätter der Tetraploiden ermitteln konnten, deuten auf Besonderheiten des Kohlenhydratstoffwechsels hin. Die Untersuchung der Assimilationsintensität hat ergeben, daß diese bei den Tetraploiden nicht geschwächt, sondern sicherlich sogar verstärkt ist. Die Assimilationsintensität vermag also die niedrigeren Kohlenhydratgehalte der Tetraploiden nicht zu erklären. Bei den Atmungsversuchen stellte sich heraus, daß die Blätter der Tetraploiden eine größere Atmungsintensität zeigen. Diese intensivere Atmung könnte natürlich die niedrigeren Kohlenhydratgehalte und die schwächere Stoffproduktion der Tetraploiden erklären. Die Genomvermehrung hätte also bei *Datura* einen Zustand zur Folge, der durch einen intensiveren Stoffwechsel gekennzeichnet ist, und zwar des aufbauenden als auch des abbauenden, deren Intensitäten sich so zueinander verhalten, daß sich eine ungünstigere Kohlenhydratbilanz und eine Ertragsminderung dabei ergibt. Die Vergrößerung des Zellvolumens hat eine relative Verkleinerung der Plasmaoberfläche zur Folge, wenn man darunter den nach außen, an die Membran grenzenden Bezirk des Cytoplasmas versteht. Diese Erscheinung könnte für den Verkehr mit der Umgebung, mit den Nachbarzellen usw., sehr wohl von Bedeutung sein. Es ist also das Verhältnis innere/äußere Oberfläche verschoben, wodurch es zu einem „Mißverhältnis" zwischen der Gesamtheit der an die innere Struktur gebundenen Vorgänge und den von der Zelloberfläche bestimmten Verbindungswegen mit der Umgebung kommt. Auch das Kernvolumen und die Kernplasmarelation dürften bei den *Datura*-Tetraploiden verändert sein. Es ist verständlich, daß davon nachhaltige Wirkungen auf den Stoffwechsel und die Leistungen der Zelle ausgehen können.

Eine Begünstigung des Stoffwechsels ist auch von seiten der Transpiration zu erwarten. Die morphologischen und anatomischen Besonderheiten der Blätter von tetraploiden *Datura*-Pflanzen hemmen die Transpiration nicht, sondern begünstigen sie. In Verbindung mit der Pflanze transpirieren die Blätter sicherlich wesentlich stärker, da sich das relativ größere Wurzelsystem der Tetraploiden fördernd auswirken muß. Diese intensivere Transpiration in Verbindung mit dem stärker ausgebildeten Wurzelsystem muß auch als die Ursache der höheren Aschegehalte angesprochen werden. Es wurde beobachtet, daß die Tetraploiden ihre Blätter später abwerfen. Auch diese Erscheinung

könnte eine stärkere Anhäufung von Mineralstoffen bewirken. Aus Arbeiten von MOLISCH (10) und anderen Autoren ist bekannt, daß der Aschegehalt mit dem Blattalter zunimmt. Zur Zeit der Fruchtreife wird bekanntlich das Blattsystem der Pflanzen stark beansprucht, bei den Tetraploiden aber offenbar weniger, da eine geringere Zahl von Früchten ernährt werden muß als bei den Diploiden.

Die Ergebnisse der physiologischen Versuche schließen indessen die Möglichkeit nicht aus, daß die Unterschiede in der Assimilations-, Atmungs- und Transpirationsintensität eine Folge der langsameren Entwicklung der Tetraploiden sind und dadurch zustande kommen, daß verschieden alte Blätter, verschiedene physiologische Zustände miteinander verglichen werden. Untersuchungen über die Abhängigkeit dieser physiologischen Vorgänge vom Blattalter, die eine Klärung dieser Frage erwarten lassen, konnten ebenfalls nicht mehr durchgeführt werden.

Eine Reihe von Beobachtungen deutet darauf hin, daß bei den Tetraploiden häufiger cytologische Störungen vorkommen, und zwar bei der Bildung der Geschlechtszellen, aber auch bei der Befruchtung. Es liegt nahe, die geringere Fertilität auf Ursachen dieser Art zurückzuführen. Aus diesen Gründen werden weniger Samen gebildet und bleiben in der Regel die Früchte klein. Wenn die „Attraktionspunkte" für die Nährstoffe, welche die sich entwickelnden Samen darstellen, fehlen, unterbleibt auch der Stofftransport in die Früchte. Ein Mangel an Nährstoffen scheint trotz der geringen Kohlenhydratgehalte der Blätter nicht vorzuliegen; denn das samennahe Gewebe der Fruchtwand enthält bei den Tetraploiden mehr Nährstoffe als bei den Diploiden. Wenn eine Herabsetzung der Permeabilität bei den Tetraploiden vorliegt, wie z. B. SCHWANITZ (21) annimmt, so kann dadurch natürlich eine Behinderung des Assimilattransportes bewirkt werden. Diese ist aber offenbar bei unserem Material nicht ausreichend, um die geringere Fertilität bewirken und erklären zu können.

Die Polyploidie-Effekte sind bei den einzelnen tetraploiden Stämmen verschieden ausgeprägt. Zwischen den Stämmen bestehen offenbar genetische Unterschiede, die auch für die Ausprägung der tetraploiden Merkmale verantwortlich zu machen sind. Damit wird bestätigt, daß der Erfolg der Polyploidisierung mit von der genetischen Beschaffenheit des Ausgangsmaterials abhängt, daß es mit anderen Worten darauf ankommt, welche Gene verdoppelt werden [PIRSCHLE (15)]. Genauere Aussagen erlauben diese Versuche aber nicht. Dafür wäre bis auf die Genomzahl genetisch identisches Material erforderlich. Ganz aus dem Rahmen fällt der Stamm 3310, der aber, wie schon betont, nicht mit der *Inermis*-Kontrolle verglichen werden darf, aber auch nicht wegen zu großer genetischer Unterschiede mit dem bestachelten diploiden Stamm, der im Düngungsversuch mitangebaut wurde.

Welche praktische Bedeutung kommt dem erhöhten Alkaloidgehalt der Tetraploiden zu, d. h. sind bei einem Anbau der tetraploiden Stämme größere Alkaloiderträge zu erzielen? Da *Datura tatula* eine Blattdroge ist, hat man zu fragen, ob die Blatternte bei den Tetraploiden höhere Alkaloiderträge bringt als bei den Diploiden. Wie die Zahlen zeigen, ergeben sich trotz des geringeren Ertrages an Blattmasse in der Tat Mehrausbeuten, und zwar von 52—174%. In Wirklichkeit sind noch größere Erträge zu erzielen, da die Tetraploiden weniger wüchsig sind und deshalb enger gepflanzt werden können als die Diploiden. Die Tetraploiden sind also im Hinblick auf die Nutzung als Blattdroge den Diploiden überlegen, da sie auf der Flächeneinheit mehr Alkaloid produzieren. Sie liefern aber auch eine Droge mit höherem Alkaloidgehalt, was für die technische Aufarbeitung, die Gewinnung der Basen, von Vorteil ist. Die Polyploidisierung hat also direkt zu praktisch wertvollen Nutzpflanzen geführt, ein seltener Fall; denn erfahrungsgemäß gelangt man auf diesem Weg meist zu Abänderungen, die bestenfalls gleichgültig sind, häufig sich aber ungünstig für die Pflanze auswirken oder ihren Wert als Nutzpflanze herabsetzen. Andere Merkmale, der Gesamtertrag und die Fertilität z. B., sind ja auch im ungünstigen Sinn verändert worden. Die Bedeutung der Neuzüchtungen ist durch die Zeitverhältnisse insofern geschmälert worden, als die Beschaffung von Atropin und Scopolamin liefernden Drogen neuerdings keine Schwierigkeiten mehr bereitet. Es dürften aber alkaloidreiche Zuchtsorten auch für die derzeitigen Erzeugungsländer der Droge von Bedeutung sein. Noch leistungsfähigere Sorten sind zu erwarten, wenn man Pflanzen polyploidisiert, die bereits im diploiden Zustand die Nutzeigenschaften in guter Ausprägung zeigen.

Auch die Stengel erbringen, wie die Zahlen zeigen, bedeutende Alkaloiderträge, vor allem bei den am 4. 8. geernteten Pflanzen. Die Blätter von 100 Pflanzen liefern rund 2 g Alkaloid, die Stengel aber nahezu 6 g, und zwar bei den Diploiden, während die Unterschiede bei den Tetraploiden etwas geringer sind. Der Verwertung der Stengel stehen aber der geringe Alkaloidgehalt und ihre starke Verholzung entgegen, welche die technische Verarbeitung erschweren. Doch stellen die Stengel eine namhafte Alkaloidquelle dar, deren Erschließung durch Entwicklung eines rationellen Darstellungsverfahrens einen großen Gewinn bedeuten würde.

Zusammenfassung.

Wie bei anderen Pflanzen löst auch bei *Datura tatula* die Genomverdoppelung eine Reihe von Polyploidie-Effekten aus.

Die Zahl und Länge der Seitenzweige ist bei den Tetraploiden verringert, ebenso die Anzahl der Blätter je Pflanze. Die Blattlamina ist

größer und breiter, weiterhin ist sie verdickt und stärker gewellt. Diese morphologischen Eigentümlichkeiten bedingen den besonderen Habitus der Tetraploiden, ihre niedrige und buschige Wuchsform.

Das Volumen der Zellen ist vergrößert und die Zahl der Spaltöffnungen je Flächeneinheit reduziert.

Die tetraploiden Pflanzen produzieren weniger Masse als die diploiden. Von dieser Ertragsminderung sind jedoch die einzelnen Organe verschieden stark betroffen. So wird das Verhältnis Wurzel/Sproß durch die Genomvermehrung zugunsten der Wurzel verschoben.

Die Tetraploiden bilden weniger Blüten und Früchte. Diese sind erheblich kleiner und enthalten weniger, aber größere Samen.

Der Alkaloidgehalt ist in allen Organen vermehrt, am stärksten in den Blättern, die auch die höheren Alkaloiderträge bringen. In den Blättern der Tetraploiden sind weniger lösliche Kohlenhydrate und Stärke, aber mehr Mineralstoffe enthalten.

Die Assimilations-, Atmungs- und Transpirationsintensität ist nach den vorliegenden Ergebnissen bei den Tetraploiden gesteigert.

Die naheliegende Arbeitshypothese, die einen direkten Zusammenhang zwischen Alkaloid- und Genomvermehrung annimmt, also das Alkaloid als Produkt des Kernstoffwechsels auffaßt, hat sich nicht beweisen lassen: Diploides und tetraploides Gewebe unterscheiden sich nicht im Gehalt an Arginin, der vermutlichen, im Kern reichlich enthaltenen Muttersubstanz der Tropabasen, und das Alkaloidbildungsvermögen von isolierten wachsenden *Datura*-Wurzeln hängt nicht vom Arginingehalt des Nährbodens ab. Eine zwanglose Erklärung des erhöhten Alkaloidgehaltes ergibt sich aber, wenn man die bei den Tetraploiden vorliegende relative Vergrößerung des Wurzelsystems mit der von Mothes und Hieke sowie anderen Autoren entwickelten Vorstellung in Verbindung bringt, daß die Alkaloide in der Wurzel gebildet werden und mit dem aufsteigenden Saftstrom in die oberirdischen Organe gelangen: Das in der Wurzel gebildete Alkaloid verteilt sich bei den Tetraploiden auf eine kleinere oberirdische Stoffmasse und bewirkt die beobachtete höhere Konzentration.

Die geringere Stoffproduktion ist vermutlich die Folge einer nach der Seite der Atmung verschobenen Stoffbilanz, die ihrerseits auf „Störungen" der Zellfunktionen, ausgelöst durch den polyploiden Zustand, zurückgeht.

Störungen bei der Reduktionsteilung und Befruchtung, nicht aber mangelhafte Ernährung der Samen infolge Behinderung der Assimilatzuleitung nach den wachsenden Früchten sind offenbar die Ursachen für die herabgesetzte Fertilität der Tetraploiden.

Die unterschiedliche Ausprägung der Polyploidiemerkmale bei den einzelnen tetraploiden Stämmen bestätigt den schon von anderen

Autoren mitgeteilten Befund. daß der Erfolg der Polyploidisierung von der genetischen Beschaffenheit des Ausgangsmaterials abhängt.

Nach den Ergebnissen des Düngungsversuches reagieren die Tetraploiden auf unterschiedliche Nährstoffversorgung im gleichen Sinn, sind aber den Diploiden in der Ausnutzung der Bodensalze etwas unterlegen.

Die Tetraploiden lieferten im Feldversuch trotz geringerer Blattmasse Alkaloidmehrerträge von 52—174%. Bei engerer Pflanzung, die der geringere Wuchs gestatten würde, sind noch höhere Erträge zu erwarten.

Literatur.

1. Allport, N. L., and E. S. Wilson: Quart. J. Pharmacy a. Pharmacol. **12**, 399 (1939). — 2. Blakeslee, A. F., and A. G. Avery: Science (Lancaster, Pa.) **86**, 408 (1937). — 3. Dawson, R. F.: Amer. J. Bot. **29**, 66 (1942). — 4. Fiedler, H.: Z. Bot. **30**, 385 (1936/37). — 5. Flieg, O.: In Methodenbuch (Verband landw. Untersuchungsanstalten) Bd. IV, S. 8. Neudamm 1941. — 6. Hieke, K.: Planta (Berl.) **33**, 185 (1942). — 7. Hock, A.: In Methodenbuch (Verband landw. Untersuchungsanstalten) Bd. IV, S. 10. Neudamm 1941. — 8. Kostoff, D.: Curr. Sci. 8, 59 (1939). — 9. Meyer, K.: Landw. Jb. **91**, 369 (1941). — 10. Molisch, H.: Die Lebensdauer der Pflanze. Jena 1929. — 11. Moskov, B. S., u. M. J. Smirnova: Ref. Ber. Biol. **54**, 264 (1940). — 12. Mothes, K., u. K. Hieke: Naturwiss. **31**, 17 (1943). — 13. Mothes, K., u. D. Kretschmer: Naturwiss. **33**, 26 (1946). — 14. Nebel, B., and M. L. Ruttle: J. Hered. **29**, 3 (1938). — 15. Pirschle, K.: Z. Abstammgslehre **80**, 126, 247 (1942). — 16. Rowsen, J. M.: Nature (Lond.) **154**, 3898 (1944). — 17. Robinson, R.: Nach Karrer, Lehrbuch der organischen Chemie. Leipzig 1942. — 18. Rudorf, W.: Jena. Z. Naturwiss. **77**, 290 (1944). — 19. Sandfort, E.: Angew. Bot. **22**, 1 (1940). — 20. Schoorl, N.: In Bömer, Juckenack, Tilmans: Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. II/2, S. 871. Berlin 1935. — 21. Schwanitz, F.: Züchter **19**, 344 (1949). — 22. Schwarze, P.: Z. Züchtung **26**, 1 (1944). — 23. Schwarze, P., u. F. Wollner: Züchter **17/18**, 105 (1947). — 24. Szomolanyi, G.: Ber. ung. pharmaz. Ges. **18**, 294 (1942).

Prof. Dr. Wilhelm Rudorf und Dr. Paul Schwarze,
Voldagsen über Elze (Hannover), Max-Plank-Institut für Züchtungsforschung.

Planta, Bd. 39, S. 65—74 (1951).

BEZIEHUNGEN ZWISCHEN BLUTUNG UND GUTTATION BEI ZEA MAYS.

Von

KARL HÖHN.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. November 1950.)

I. Problemstellung.

Man kann die passive Guttation nach FREY-WYSSLING (1935, S. 229) als das Resultat mangelhafter Korrelation zwischen Wurzel und Blatt auffassen, insofern die Wurzeln auch bei verminderter Transpiration gewissermaßen unbekümmert um das Bedürfnis der Blätter Wasser in den Sproß hineinpumpen. Dieser Mangel an Korrelation im Sinne des Fehlens eines Regulationsmechanismus in der Wurzel selbst ist allerdings allein auf die Wasserversorgung zu beschränken, falls wir die biologische Bedeutung der Guttation in der Aufgabe sehen, den akropetalen Nährstoffstrom bei mangelnder Transpiration bis zu einem gewissen Grade aufrecht zu erhalten (HÖHN, 1950). Die Hydathoden können in diesem Falle nicht einfach die Aufgabe von „Ablaßventilen" für überschüssig angeliefertes Wasser haben. Auf Grund der anatomischen Verhältnisse und des Drüsencharakters aktiver Hydathoden ist bei diesen von vornherein eine größere Unabhängigkeit des Guttationsgeschehens von entsprechender Blutung zu erwarten. Dies sowohl hinsichtlich der Ausscheidungsintensität als auch der stofflichen Qualitäten des Exsudats. Soll aber der Guttation generell vorstehend bezeichnete Bedeutung zukommen, so muß ihr auch bei Pflanzen mit einfachsten, sogar epithemlosen Wasserspalten eine gewisse Eigengesetzlichkeit sowohl hinsichtlich der Intensität als auch der stofflichen Qualitäten des Exsudats gegenüber dem Blutungsausfluß zukommen. Leider liegen in dieser Richtung nur wenige quantitative Untersuchungen vor. Die aufschlußreichste Arbeit einer vergleichenden Analyse des Blutungs- und Guttationssekrets einiger Pflanzen mit Epithemhydathoden von SCHARDAKOFF (1928) wird zumeist nach KOSTYTSCHEW-WENT (1931) zitiert, da sie im Original nur schwer zugänglich ist. Neuere Bestimmungen des Säuregrades, der elektrischen Leitfähigkeit, des Trockengewichts und Aschegehalts im Blutungssaft liegen von SPEIDEL (1939, S. 88) vor.

Ziel vorliegender Untersuchung ist es, quantitative Beziehungen festzustellen zwischen Intensität und stofflichem Gehalt des Exsudats für

einander entsprechende Guttations- und Blutungsexkretion an jungen Pflanzen mit einfachen Wasserspalten *(Zea Mays)*.

Besonders starke Guttationsfähigkeit kennzeichnet das Stadium stärksten pflanzlichen Wachstums. Zur Klärung der Frage, ob auch die Konzentration des Guttationsrekrets an gelösten Stoffen Rückschlüsse auf den Entwicklungszustand der Pflanze zuläßt, werden vergleichende Analysen des Guttationswassers junger und älterer Pflanzen durchgeführt.

II. Methode und Material.

Die Hauptschwierigkeit der Untersuchungen liegt zweifellos in der stark individuellen Verschiedenheit von Guttation und Blutung selbst bei Pflanzen identischer Abkunft und Aufzucht. Auf diese Unterschiedlichkeiten haben unter anderen HEYL (1933, S. 313) und SPEIDEL (1939, S. 67, 73) nachdrücklich hingewiesen. GÄUMANN (1938, S. 398) spricht von launischer Guttation der Kartoffeln. Die Ursachen hierfür liegen sicher sowohl in der Pflanze selbst als auch in Umweltfaktoren, z. B. solchen, die schon vor dem Versuch eingewirkt haben. Um durch Mittelwertsbildung von diesen individuellen Differenzen möglichst unabhängig zu sein, wurde zu jedem Versuch eine experimentell festgestellte hinreichend große Zahl von Pflanzen herangezogen. Kurzrhythmische Schwankungen (HEIMANN, 1949; SCHMIDT, 1930; ENGEL, 1943; HEYL, 1933; SPEIDEL, 1939) wurden durch eine möglichst über die Periodenzeit im allgemeinen auf 20—24 Std ausgedehnte Versuchsdauer eliminiert. Dadurch ergab sich eine größere Genauigkeit der Meßwerte, zumal mangels subtil arbeitender komplizierter Apparaturen (z. B. der von HEIMANN, 1949; SPEIDEL, 1939) mit sehr einfacher Versuchsausrüstung gearbeitet werden mußte.

Die zur Untersuchung dienenden im allgemeinen 16 Tage alten Maissämlinge wurden im Gewächshaus unter Verwendung von 12-cm-Blumentöpfen und gleichartiger Gartenerde als Substrat herangezogen. Jeder Topf enthielt 20—30 Pflanzen. Die Töpfe wurden 4—5 Std vor Versuchsbeginn in den Arbeitsraum gebracht, wo sie zunächst kurze Zeit zwecks Sättigung des Substrats in Wasser von Raumtemperatur ($25 \pm {}^1/_2{}^0$) gestellt wurden. Überschüssiges Wasser konnte nach dem Eintauchen bis zum Versuchsanfang ablaufen. Durch die auf diese Weise erzielte Wassersättigung war ein gleichmäßiger Wassergehalt des Substrats eines jeden Topfes gewährleistet. Das Auffangen des Exsudats geschah in einfacher Weise dadurch, daß den liegenden, etwas nach vorn geneigten Blumentöpfen ein Becherglas gemäß Abb. 1 vorgelegt wurde. Dieses Auffanggefäß stellte gleichzeitig die feuchte Kammer zur Transpirationsbehinderung dar. Zwecks Vermeidung von Verdunstung wurde die Ansatzstelle Glas-Blumentopf mit feuchtem bandförmigem Filtrierpapier umgeben.

Der Blumentopf selbst war ebenfalls von einer feuchten Filtrierpapiermanschette umhüllt. Die Feuchthaltung dieser Filtrierpapiere geschah mittels dochtartiger in einen Wasserbehälter tauchender Filtrierpapierlasche.

Das Exsudat wurde nach Beendigung eines Versuchs in Porzellantiegel gegossen, darin gewogen, getrocknet und geglüht. Ein elektrischer Tiegelofen diente zur Veraschung.

Wenngleich bei scharfer Veraschung nicht nur organische Substanz verbrennt, sondern auch eine Zersetzung von Salzen erfolgt, so soll dennoch in vorliegender Untersuchung als Mengenmaß der organischen Substanz die Differenz des Trocken- und Reinaschegewichtes gelten.

Die für Blutungsstudien vorgesehenen Pflanzen wurden, um durch die Verletzung frei werdende Zellinhaltsstoffe auszuschließen, eine halbe

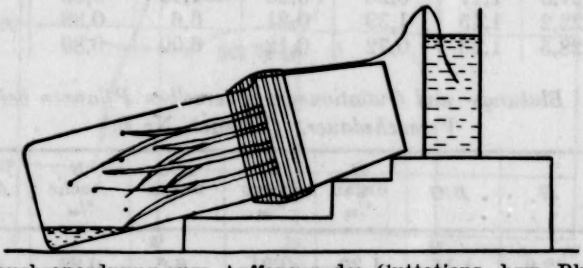


Abb. 1. Versuchsanordnung zum Auffangen des Guttations- bzw. Blutungssaftes.

Stunde vor Untersuchungsbeginn dekapitiert. Der Schnitt wurde mit dem Rasiermesser etwa 3 cm über der Erde geführt.

Um, dem Ziel der Arbeit entsprechend, Aussagen über die während des Guttierens herrschende Blutungstendenz mit ihren stofflichen Merkmalen gemacht werden können, gibt es 2 Methoden: Bei der ersten wird nach vorheriger Abnahme des Guttationswassers anschließend dekapitiert und das Blutungsrekret analysiert. Diese Methode birgt Unsicherheiten in sich, da der physiologische Zustand und die davon empfindlich betroffene Exkretionstendenz bei den zeitlich getrennten Guttations- und Blutungsphasen stark differieren kann. Die zweite Methode sieht gleichzeitige Ablesung von Guttation und Blutung an zwei größeren Serien genau gleichartig herangezogener Pflanzen vor. Sie wurde zu den Veruchen des Abschnitts III ausschließlich verwendet.

In Vorversuchen mit steigender Objektzahl wurde ermittelt, wieviel Pflanzen zusammengefaßt werden müssen, um damit unter gleichen Bedingungen vergleichbare Ausscheidungsmengen zu erhalten. Es ergab sich, daß mindestens 3 gleich behandelte Töpfe mit insgesamt 60 oder mehr Sämlingen zu einem Teilversuch (Guttation bzw. Blutung) zusammengeschlossen werden müssen. Gewöhnlich wurden aber je Teilversuch 4 Töpfe mit insgesamt 80—120 Pflanzen eingesetzt.

Die absolute zur Analyse gelangende Exsudatmenge betrug im allgemeinen zwischen 5 und 30 g.

III. Beziehungen zwischen Blutung und Guttation bei gleichaltrigen Pflanzen.

1. Tabellarische Übersicht über die Ergebnisse.

Tabelle 1. *Blutungs- und Guttationswerte verschiedener Pflanzen.*

Nr.	*B*	*G*	*B*/*G*	*B* organ ‰	*G* organ ‰	*B*/*G* organ	*B* Asche ‰	*G* Asche ‰	*B*/*G* Asche
8	0	4,9	0	0	0,20	0	0	0,22	
2	5,5	9,2	0,59	1,12	0,04	32	0,47	0,16	3,03
3	6,4	8,1	0,79	0,56	0,35	1,6	0,48	0,12	4,00
10	9,2	8,4	1,10	1,13	0,31	3,64	0,77	0,20	3,85
9	14,1	13,1	1,07	0,55	0,17	3,2	0,61	0,10	6,23
1	21,4	18,6	1,15	0,20	0,16	1,25	0,68	0,10	6,71
4	25,0	21,3	1,17	0,26	0,23	1,13	0,89	0,08	11,10
6	25,4	22,2	1,15	1,39	0,21	6,6	0,88	0,08	11,0
5	35,0	28,5	1,23	0,72	0,12	6,00	0,89	0,08	11,1

Tabelle 2. *Blutungs- und Guttationswerte derselben Pflanzen bei 90stündiger Versuchsdauer.* (Versuch Nr. 6.)

Nr.*	*B*	*G*	*B*/*G*	*B* organ ‰	*G* organ ‰	*B*/*G* organ	*B* Asche ‰	*G* Asche ‰	*B*/*G* Asche
1	25,4	22,2	1,15	1,39	0,21	6,6	0,88	0,08	11,00
2	24,2	21,2	1,14	1,21	0,12	10,1	0,81	0,11	7,35
3	21,8	19,3	1,13	0,93	0,08	11,6	0,79	0,11	7,18
4	21,0	20,2	1,04	0,77	0,10	7,7	0,85	0,14	6,05
5	14,2	14,5	0,98	0,55	0,07	7,8	0,90	0,21	4,28
6	12,3	13,2	0,93	0,61	0,06	10,2	0,94	0,27	3,36
7	7,4	7,9	0,93	0,40	0,04	10,0	0,86	0,28	3,06
8	4,6	4,8	0,96	0,31	0,03	10,3	0,73	0,30	2,43
9	1,0	—		0,22	—		0,78	—	

* Die Nummern bedeuten die Reihenfolge der 10stündigen Ablesungen.

B Ausgeschiedenes Blutungswasser in Milligramm je Stunde und Pflanze.

G Während der gleichen Zeit ausgeschiedenes Guttationswasser in Milligramm je Stunde und Pflanze.

B/*G* Verhältnis *B* zu *G*.

B_{organ}, G_{organ} Konzentration der im Blutungs- bzw. Guttationswasser enthaltenen organischen Substanz in Milligramm je Liter.

B/G_{organ}, Verhältnis B_{organ} zu G_{organ}.

B_{Asche}, G_{Asche}, B/G_{Asche} entsprechend B_{organ} usw. (s. oben)

$B/G_{absol.\ Asche}$ Verhältnis der je Stunde und Pflanze ausgeschiedenen Aschenmenge im Blutungs- bzw. Guttationswasser (nur in Abb. 3).

Die Versuche der Tabelle 1 sind nicht chronologisch, sondern in der Reihenfolge der Blutungsintensität geordnet. Sie währten mit Unterbrechungen von August bis Oktober 1950. Die Dauer der einzelnen Versuche betrug aus bereits erwähnten Gründen (S. 66) 20—24 Std, mit Ausnahme des Versuchs 6, dessen erster nach 10stündiger Versuchsdauer ermittelter Wert eingesetzt wurde.

Die Versuchsumstände des Versuchs Nr. 6 (Tabelle 2) unterscheiden sich von den soeben erläuterten durch die auf 90 Std ausgedehnte Versuchszeit (vom 25. 9. 14.40 Uhr bis 29. 9. 8.40 Uhr) bei Auswertung der regelmäßig von 10 zu 10 Std abgefangenen Blutungs- und Guttationsexkrete.

2. Das Verhältnis von Blutungs- und Guttationsintensität.

Obwohl die in Tabelle 1 zusammengestellten Versuche an verschiedenen Tagen und in der Regel mit zu verschiedenen Zeiten ausgesätem Pflanzenmaterial angesetzt sind, lassen sie erkennen, daß Blutungs- und Guttationsstärken auch bei den mit typischen passiven Hydathoden

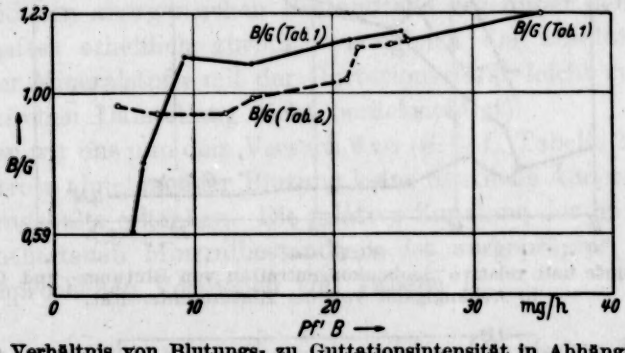


Abb. 2. Das Verhältnis von Blutungs- zu Guttationsintensität in Abhängigkeit von der Blutungsstärke.

einfachster Art versehenen Maissämlingen nicht proportional sind. Bei stärkerer Blutungstendenz tritt die Guttationsleistung hinter die Blutung zurück, während bei schwacher Blutung die Gutationsintensität überwiegt. Deutlich treten diese Verhältnisse in der graphischen Darstellung von B/G (Abb. 2*) hervor. Auch Versuch Nr. 6 führt trotz der von den bisherigen sehr verschiedenen Versuchsbedingungen (s. oben) zu einem ähnlichen Ergebnis (Abb. 2). Es ist bei diesem Versuch allerdings zu bedenken, daß die Blutungstendenz längere Zeit nach der Dekapitation von der der intakten Pflanze erheblich abweichen dürfte.

Der in sämtlichen Versuchen zu beobachtenden verringerten Guttationsgeschwindigkeit bei zunehmender Blutungstendenz könnte eine Erhöhung des Strömungswiderstandes im Gefolge stärkeren Durchflusses zugrunde liegen.

Bemerkenswert ist ein Parallelversuch zu 9 mit einem Wassergehalt des Substrats von nur 16% gegenüber dem üblichen Wassergehalt von 36%. Unter diesen Umständen ist die Wasserversorgung der Pflanze behindert, was sich in einer gänzlichen Unterdrückung der Blutung, nicht aber der Guttation, zu erkennen gibt. Auf das entgegengesetzte Verhalten älterer Pflanzen wird später hingewiesen (S. 72).

* Sämtliche Kurven, auch die von Guttationsgrößen, sind auf entsprechende Blutungsintensitäten bezogen.

3. Das Mengenverhältnis der im Blutungssaft bzw. im Guttationswasser ausgeschiedenen organischen Substanz.

Die während der ersten 24 Std ausgeschiedenen Blutungs- und Guttationsflüssigkeiten frischer, junger Pflanzen (Tabelle 1) lassen

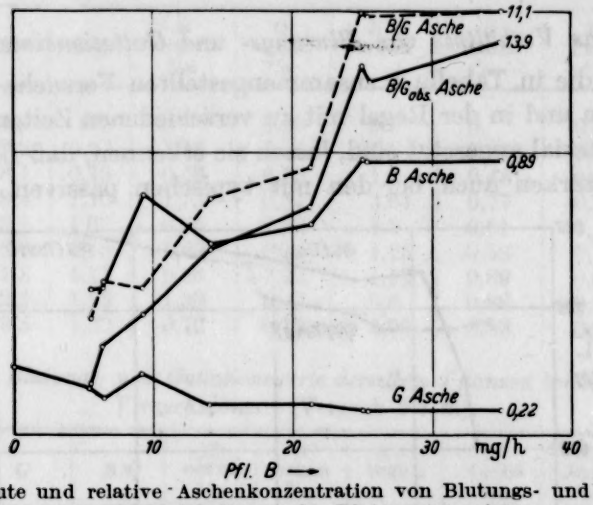


Abb. 3. Absolute und relative Aschenkonzentration von Blutungs- und Guttationssaft in Abhängigkeit von der Blutungsintensität.

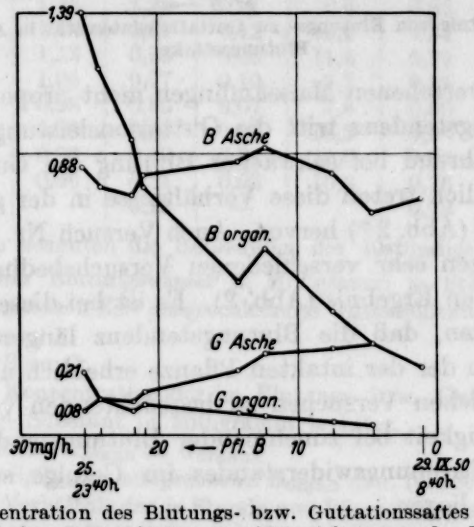


Abb. 4. Konzentration des Blutungs- bzw. Guttationssaftes an organischen und anorganischen Bestandteilen in Abhängigkeit von der Blutungsstärke.

hinsichtlich ihres Gehalts an organischen Stoffen keine einwandfreie Beziehung zur Blutungs- oder Guttationsstärke erkennen.

Bei nachlassender Ausscheidung ein und derselben Pflanze (Versuch Nr. 6, Tabelle Nr. 2) zeigt sich allerdings sowohl im Blutungswasser als auch im Guttationsrekret eine Abnahme des relativen Gehalts an organischen Stoffen (Abb. 4). Es dürfte dies die Folge des Nachlassens dissimilatorischer Vorgänge in der Wurzel sein.

4. Aschengehalt des Blutungs- und Guttationssaftes.

Die in Abhängigkeit zur Blutungsstärke aufgetragene Kurve des relativen Aschengehalts im Blutungssaft (Abb. 3) zeigt einen unregelmäßigen Verlauf, wenngleich allgemein steigende Tendenz bemerkbar ist. Im Gegensatz dazu offenbart die Kurve des Verhältnisses der Aschenkonzentration von Blutungs- zu Guttationsrekret ansteigenden Verlauf (B/G_{Asche}, Abb. 3). In noch extremerer Weise begegnet uns dieselbe Tendenz hinsichtlich der je Zeiteinheit im Blutungs- bzw. Guttationsfluß ausgeschiedenen Aschenmengen (Abb. 3, $B/G_{\text{absol.}}$). Bei stärkerer Blutungsintensität treten also die im Guttationsexkret ausgeschiedenen anorganischen Bestandteile gegenüber denjenigen des Blutungssaftes erheblich zurück, wenngleich die absoluten Mengen sezernierter Mineralstoffe mit der Guttationsstärke leicht zunehmen (in der graphischen Darstellung nicht berücksichtigt).

Wenden wir uns nun dem Versuch 6 zu (S. 68f., Tabelle 2, Abb. 4), so läßt sich trotz abnehmender Blutung keine deutliche Änderungstendenz des Aschengehalts erkennen. Die relative Zunahme der im Guttationswasser enthaltenen Mineralbestandteile ist ausgeprägter als bei den bisher besprochenen Versuchen von Tabelle 1.

IV. Beziehungen zwischen organischen und anorganischen Bestandteilen im Guttationssaft jüngerer und älterer Pflanzen.

Die in der Tabelle 3 wiedergegebenen Werte der einzelnen Versuche beziehen sich auf ein und dieselben Pflanzen, die erstmalig im Alter von 12—17 Tagen und zum zweitenmal 7—14 Tage später zur Guttationsmessung herangezogen worden sind. In der Zwischenzeit standen die Pflanzen im Gewächshaus. Sie hatten trotz ihres auch bei der zweiten Messung noch geringen absoluten Alters verstärkt durch die ungünstigen

Tabelle 3. *Guttationswerte verschieden alter Pflanzen.*

Nr.	Alter Tage	G	B	G organ mg °/₀₀	G Asche mg °/₀₀
4	16	21,3	—	0,23	0,08
dieselben	24	13,7	—	0,22	0,20
5	16	28,5	—	0,12	0,08
dieselben	23	23,6	—	0,39	0,17
7	12	22,0	—	0,11	0,15
dieselben	20	17,0	—	0,15	0,35
9	17	13,1	—	0,17	0,10
dieselben	31	—	—	—	—
9b	31	—	2,1		

Die Versuche 9 (Pflanze 31 Tage alt) und 9b liefen gleichzeitig nebeneinander. — Sonstige Erläuterungen bei Tabelle 1 und 2, S. 68.

Anzuchtbedingungen (Topf-Gewächshauskultur am Ende der Vegetationsperiode) sowohl im Wachstum als auch in der Guttationsintensität stark nachgelassen. Die Versuche 9 (31 Tage) und 9 b stellen allerdings gleichzeitige Parallelversuche (älterer und jüngerer Pflanzen) dar. Sie erweisen 31 Tage alte Pflanzen wohl z. T. als noch blutungs-, aber nicht mehr guttationsfähig. Es sei in diesem Zusammenhang an das gegensätzliche Verhalten jüngerer, vitaler, aber unter ungünstigeren Wasseraufnahmebedingungen untersuchter Pflanzen (S. 69) erinnert. Die anderen Versuche der Tabelle 3 zeigen mit höherem Alter deutliche Zunahme des relativen Anteils organischer und mineralischer Stoffe im Exsudat.

Es sei erwähnt, daß entsprechende Vorversuche mit *Borago off.* und *Alchemilla vulg.* ein vergleichbares Ergebnis nur für *Alchemilla* brachten.

V. Besprechung der Ergebnisse.

Die Analysen SCHARDAKOFFs (1928) haben bereits erkennen lassen, daß die Ionenkonzentration im Blutungssaft wesentlich höher ist als im Guttationswasser. Es ist namentlich das Epithem der Hydathoden, welches die Konzentration der Mineralsalze im Guttationswasser herabsetzt. Vorliegende Untersuchungen zeigen, daß höhere Lösungskonzentrationen der Blutungsexsudate gegenüber denjenigen von Guttationssäften nicht nur Pflanzen mit Epithemhydathoden (*Papaver somniferum*, *Brassica oleracea*, *Calla palustris* nach SCHARDAKOFF), sondern auch Gräsern mit einfachen Wasserspalten (Mais) zukommen. Ferner zeigt es sich, daß das gegenseitige Verhältnis von Guttations- und Blutungsleistung im Hinblick auf Menge und stoffliche Konzentration des Exsudats schwankt. Diese Schwankungen stehen sowohl in gewissen gegenseitigen Beziehungen als auch solchen zum Alter des Versuchsobjekts. Es wird also durch die Wasserspalten nicht einfach der unveränderte von Wurzel und Stengel geförderte Gefäßsaft ausgeschieden. Der Sproß hält einen Teil der gelösten Stoffe zurück, die sich in dem vom Wurzeldruck emporgepreßten Safte befinden, bevor dieser als Blutungssaft ausgeschieden wird.

Wie vorliegende Untersuchung zeigt, dürfte der zurückgehaltene Anteil gerade bei schnell wachsenden, stark blutenden und guttierenden Pflanzen besonders groß sein, da bei derartigen Objekten die Salzkonzentration des Guttationswassers gering und die des Blutungssaftes groß ist (Abschn. III, 4). Hat das Wachstum nachgelassen, so wird, wie Abschn. IV lehrt, ein Guttationssekret mit höherem Aschengehalt sezerniert. Im Einklang mit der verminderten Notwendigkeit akropetaler Nährstoffzufuhr könnte diese Erscheinung auf eine geringere Zurückhaltung von Aufbaustoffen hinweisen.

Auf alle Fälle macht sich bei Pflanzen minderer Vitalität ein Mangel stofflicher Korrelation zwischen Wurzel und Sproß im Sinne FREY-WYSSLINGs (1935) bemerkbar.

Die Wurzeln führen auf Grund ihres Ausschließungsunvermögens dem Sproß mehr Stoffe (zumindest mehr Salze) zu als dieser benötigt. Die Pflanze kann sich der überschüssig in das Leitsystem des Sprosses gelangten Substanzen durch guttative Rekretion entledigen, insoweit allerdings nicht schon eine Wiederausscheidung durch die Wurzeln selbst stattgefunden hat (MAZÉ, 1911).

Für das durch starkes Wachstum gekennzeichnete Entwicklungsstadium der Pflanze ergibt sich aus den stofflichen Mengenbeziehungen der Guttations- und Blutungsexkrete eine Stütze für die biologische Deutung des Guttationsphänomens als eines Prinzips zum akropetalen Transport von Aufbaustoffen bei mangelnder Transpiration.

Eine weitere Stütze erhält diese Auffassung durch Betrachtung des gegenseitigen Verhältnisses der Blutungs- und Guttationsleistung selbst (Abschn. III, 3): Wir erkennen die starke Tendenz junger, wachstumsfreudiger Pflanzen, selbst bei ungünstigen Wasseraufnahmeverhältnissen, die eine Blutung nicht mehr erlauben, zu guttieren und damit bei mangelnder Transpiration einen akropetalen Saftstrom zu ermöglichen. Bei schwachem Wurzeldruck ist die guttativ sezernierte Flüssigkeitsmenge im allgemeinen größer als die entsprechende Quantität von Blutungssaft (Abb. 2). Ältere Pflanzen stellen dagegen die Guttation schon ein, *wenngleich* noch Wurzeldruck vorhanden ist (Abschn. IV). Vergegenwärtigen wir uns allerdings, daß abgeschnittene wurzellose Stengelstücke von *Zea Mays* an einer apikalen Schnittfläche Flüssigkeit auszuscheiden vermögen (KRAUS 1884), so nimmt uns die in gewissen Grenzen erkannte Unabhängigkeit von Guttation und Blutung nicht wunder. Es stammt eben ein Teil der zur oberirdischen Wasserabgabe benötigten Energie nicht von der Wurzel, sondern vom Stengel.

VI. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die Guttationsintensität junger Pflanzen mit einfachen epithemlosen Wasserspalten (Mais) ist der Intensität entsprechender Blutung nicht proportional. Bei schwacher Blutungstendenz überwiegt die guttative Ausscheidung über die Blutungssekretion. Bei starker Blutungstendenz kehren sich diese Verhältnisse um.

2. Das Verhältnis der Konzentration anorganischer Bestandteile des Blutungssaftes zu der des Guttationsrekretes ist bei starker Blutungstendenz groß und bei schwacher Blutungstendenz klein (Abb. 3).

3. Bei verminderter Wachstumsintensität unterbleibt Guttation trotz Vorhandenseins von Wurzeldruck. Junge, stark wachsende Pflanzen vermögen trotz fehlender Blutungsfähigkeit zu guttieren.

4. Die Aschenkonzentration des Guttationsrekretes älterer Pflanzen ist bei gleichzeitig schwächerer Guttationsstärke höher als die jüngerer Pflanzen.

5. Es werden die Ergebnisse im Hinblick auf folgende Deutung des Guttationsphänomens diskutiert: Die Guttation stellt in der Wachstumsperiode gewisser Pflanzen ein Mittel zur Förderung des akropetalen Stofftransports bei mangelnder Transpiration dar.

Literatur.

ENGEL, H.: Periodische Guttation. Ber. dtsch. bot. Ges. **61**, 291 (1943). — FREY-WYSSLING, A.: Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen, S. 229, 320. Berlin 1935. — GÄUMANN, E.: Über die experimentelle Auslösung der Guttation. Ber. dtsch. bot. Ges. **56**, 396 (1938). — HEIMANN, M.: Einfluß periodischer Beleuchtung auf die Guttationsrhythmik. Planta (Berl.) **38**, 123 (1950). — HEYL, J.: Der Einfluß von Außenfaktoren auf das Bluten der Pflanzen. Planta (Berl.) **20**, 294 (1933). — HÖHN, K.: Untersuchungen über Hydathoden und deren Funktion. Akad. Wiss. u. Lit., Math.naturwiss. Kl. **1950**, Nr 2. — KRAUS, C.: Die Saftleistung der Maiswurzel. Ber. dtsch. bot. Ges. **2**, 115 (1884). — LIPPMANN, E.: Über das Vorkommen der verschiedenen Arten der Guttation und einige physiologische und ökologische Beziehungen. Bot. Archiv **11**, 361 (1925). — MAZÉ, M.: Sur l'excrétion des substances minérales et organiques par les racines et les stomates aquifères. C. r. Acad. Sci. Paris **152**, 452 (1911). — MONTFORT, C.: Physiologische Grundlegung einer Guttationsmethode zur relativen Prüfung der Wasseraufnahme. Jb. Bot. **59**, 467 (1920). — SCHARDAKOFF, W. S.: Bull. Inst. biol. Univ. Perm. (russ.) **6**, 193 (1928). Zit. nach KOSTYTSCHEW, Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 2, S. 119. Berlin 1931. — SCHMIDT, H.: Zur Funktion der Hydathoden von Saxifraga. Planta (Berl.) **10**, 314 (1930). — SPEIDEL, B.: Untersuchungen zur Physiologie des Blutens bei höheren Pflanzen. Planta (Berl.) **30**, 67 (1939).

Privatdozent Dr. KARL HÖHN, Mainz, Botan. Institut der Universität.

Planta, Bd. 39, S. 75—90 (1951).

ÜBER DAS VORKOMMEN EINER GATTUNG DER HUMIRIACEEN IM EUROPÄISCHEN TERTIÄR.

Von

FRANZ KIRCHHEIMER.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Dezember 1950.)

Die kleine Familie der zu den Geranialen gestellten Humiriaceen ist in der gegenwärtigen Flora nur durch die Gattungen *Humiria* J. ST. HILAIRE, *Sacoglottis* MARTIUS und *Vantanea* AUBLET vertreten. WINKLER (1931, S. 126—129) hat diese der Tropenflora angehörenden Gewächse als Humirioideen den Linaceen zugewiesen und eine Übersicht des Artenbestandes gegeben. Von ihren Gattungen sind *Humiria* und *Vantanea* auf die feuchtheißen Gebiete des nordöstlichen Südamerikas beschränkt. Die etwa 19 *Sacoglottis*-Arten finden sich mit einer Ausnahme in dem gleichen, äquatorialen Areal. Sie bewohnen daselbst vorwiegend die Mündungsgebiete der großen Flüsse und Ströme. Als einzige altweltliche Form der Familie ist die an ähnlichen Standorten in feuchtheißen küstennahen Gebieten des westlichen Afrikas vorkommende *Sacoglottis gabonensis* (BAILLON) URBAN bemerkenswert. Sie wird von den älteren Autoren einer als *Aubrya* BAILLON bezeichneten, besonderen Gattung der Humiriaceen zugewiesen. Eine Darstellung des bikontinentalen Areals dieser Familie hat VESTER (1940, S. 526; Abb. 240) gegeben.

Sämtliche *Sacoglottis*-Arten sind baumförmig und besitzen lederartige Blätter. Das Endokarp der Mehrzahl dieser Gewächse führt große, häufig mit einem harzigen Stoff ausgefüllte Lakunen und ist schwimmfähig. Die Früchte der *Sacoglottis amazonica* MARTIUS werden von den Meeresströmungen nicht nur dem Strand des mexikanischen Golfes zugeführt, sondern finden sich gelegentlich auch an westeuropäischen Küsten. BERRY (1922a, S. 127) sammelte mehrere, ± erodierte Früchte aus der Seedrift am Golf von Panama; auch die Westküste von Costarica hat solches Treibgut ergeben (1925, S. 65). Demnach ist für diese Art ein noch unbekanntes pazifisches Vorkommen anzunehmen.

Fruchtreste von Humiriaceen wurden mit einer Ausnahme nur aus Ablagerungen des südamerikanischen Tertiärs beschrieben. Ihre Fundorte liegen innerhalb des gegenwärtigen Verbreitungsgebietes der Familie

oder in seiner Nachbarschaft, wenn auch zum Teil fern von den Standorten der heutigen Vertreter und infolge des späteren Aufsteigens der Anden bis nahezu 4000 m über dem Meeresspiegel. Die als *Sacoglottis germanica* WEYLAND beschriebenen Fossilien stammen weder aus Europa noch gehören sie zu einer Gattung der Humiriaceen. Nunmehr können im niederhessischen Tertiär gefundene, unzweifelhaft von einem Gewächs dieser Familie stammende Fruchtreste mitgeteilt werden. Für die Überlassung der im Geologischen Institut der Universität Marburg befindlichen Fossilien habe ich Herrn C. W. KOCKEL zu danken. Die Herren R. KRÄUSEL (Frankfurt a. M.), H. N. MOLDENKE (New York), O. H. SELLING (Stockholm), K. SUESSENGUTH (München), H. UDLUFT (Wiesbaden) und H. WEYLAND (Wuppertal) stellten in dankenswertem Entgegenkommen die Früchte heutiger Humiriaceen zu Vergleichszwecken zur Verfügung oder haben mir unzugängliche Schriften beschafft.

Sacoglottis Kayseri (SCHINDEHÜTTE) n. comb. (Abb. 1 und 2).

Im Jahre 1907 hat SCHINDEHÜTTE aus dem Basalttuff des Eichelskopfes südöstlich von Homberg in Niederhessen die Reste zweier vermeintlicher Koniferenzapfen als *Actinostrobites Kayseri* beschrieben (S. 18). Diese seit vielen Jahren verschollenen Fossilien sind bei der Neuordnung der Sammlung des Geologischen Institutes in Marburg zum Vorschein gekommen und konnten eingehend untersucht werden. Sie bestehen aus einem grauen feinkörnigen Basalttuff, der nach LUDWIG (1858, S. 152) als ein unterer, subaquatisch abgelagerter Horizont innerhalb des Profiles am Eichelskopf auftritt (vgl. auch SCHINDEHÜTTE 1907, S. 2/3). Demnach ist an der Herkunft der Reste von dieser Örtlichkeit nicht zu zweifeln.

Selbst eine flüchtige Betrachtung gibt zu erkennen, daß die Fossilien nicht auf Koniferenzapfen zurückgehen. Übrigens wurden meine Zweifel an der von SCHINDEHÜTTE (1907) vertretenen Zuweisung bereits vor Jahren durch die Einzelheiten der Abbildungen ausgelöst. Die beiden Reste sind als Ausfüllungen der von dem Endokarp der Früchte eines Laubgewächses hinterlassenen Hohlräume zu deuten. Bei diesem Erhaltungszustand erübrigt sich das Durchschneiden der Gesteinskerne, da sie keine Einzelheiten des inneren Baues überliefert haben. Beschreibung und Deutung der beiden Fossilien können nur nach der Beschaffenheit ihrer Oberfläche erfolgen.

a) SCHINDEHÜTTE (1907) Tafel 1, Fig. 1 und 1a. — Das durch die Abb. 1a—c sowie Abb. 2 veranschaulichte Fossil ist 23,6 mm lang, bis 23 mm breit und mit einem kleineren Durchmesser von 16,2 mm versehen. Dieser Gesteinskern zeigt eine flache Basis und kaum entwickelte Spitze. Über seine Oberfläche verlaufen 6 flache, etwa 4—6 mm breite Längsrippen; an der Basis überragen sie die Ansatzstelle als spitzige Höcker um 1,5 mm. Ihrer Mitte folgt eine besonders in der oberen

Hälfte deutliche Rinne, die auf ein Leitbündel oder einen Faserbelag zurückgehen dürfte. Zwischen den Rippen befinden sich die 4,5 bis 6,4 mm breiten Keimklappen der 6 Fächer. Sie erstrecken sich als zungenförmige Gebilde von der Basis bis etwa 4 mm unter die Spitze

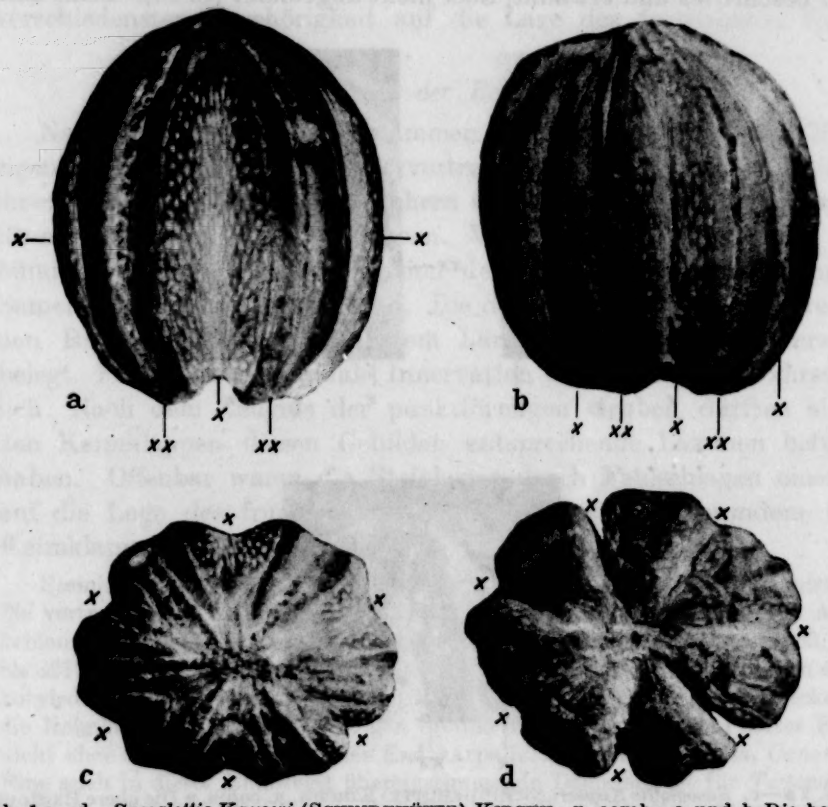


Abb. 1 a—d. *Sacoglottis Kayseri* (SCHINDEHÜTTE) KIRCHH. n. comb. a und b Die beiden Gesteinskerne in Seitenansicht. c Spitze des durch a veranschaulichten 6fächerigen Fundstückes mit den zu den Fächern absteigenden Leitbündelspuren. d Basis des durch b dargestellten 7fächerigen Fossils mit den als Höcker hervortretenden Rippen. × Bezeichnet die Lage der löcherig punktierten, durch Risse abgegrenzten Keimklappen. × × Die den Scheidewänden entsprechenden flachen Rippen mit den Leitbündelspuren. Etwa 2,5mal vergrößert.

und enden mit spitzigen Bogen. Diese Keimklappen sind durch eine besonders über ihrer abgestutzten Basis deutliche, daselbst 1—2 mm tiefe Konkavität breit gefurcht bis schwach gemuldet. Gegen die kaum hervortretenden Rippen und die Spitze werden sie durch feine, offenbar der Dehiszenz und Ablösung dienende Risse abgegrenzt. Von der Spitze verläuft zu jedem Fach eine flache Rinne und tritt unter dem bogigen Ende seiner Keimklappe in das Innere ein, zweifellos die Spur eines zu der Plazenta führenden Leitbündels. Auf den Keimklappen befinden sich zahlreiche, bis 0,7 mm große, in undeutlichen Längsreihen

liegende punktförmige Gruben. Sie sind über der Basis, im Tiefsten der Furchen und unter der Spitze längsgestreckt.

b) Abb. 1b u. d. — Dieses auf einen 7fächerigen Steinkern zurückgehende Fossil hat SCHINDEHÜTTE (1907) zwar als *Actinostrobites Kayseri* beschriftet und erwähnt, aber nicht abgebildet (S. 18). Seine Länge

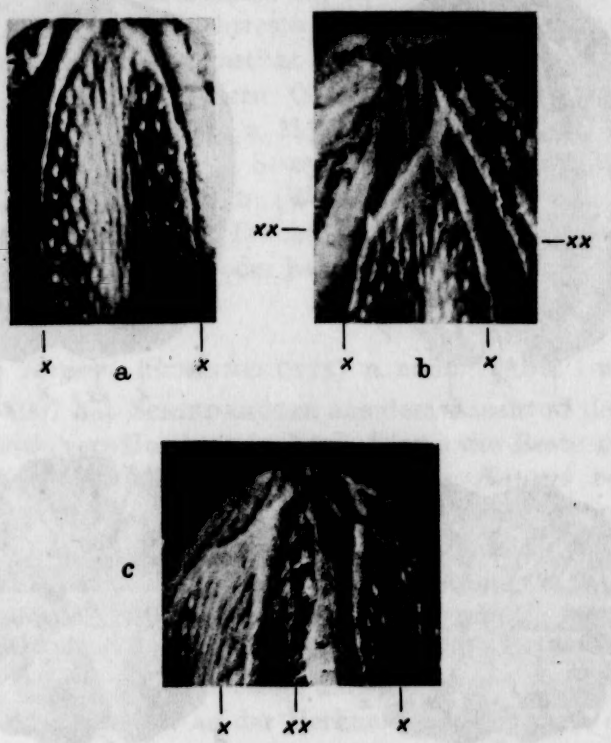


Abb. 2 a—c. *Sacoglottis Kayseri* (SCHINDEHÜTTE) KIRCHH. n. comb. a Die obere Hälfte einer der zungenförmigen, löcherig punktierten Keimklappen des durch die Abb. 1a veranschaulichten Gesteinskernes; × die sie gegen die Rippen abgrenzenden Risse. b Teilansicht der Spitze des gleichen Fossils; gegen den oberen Rand der durch die Risse × begrenzten Keimklappe verläuft eine Leitbündelspur; × × die benachbarten Rippen mit den Leitbündelrinnen. c vgl. b; × zwei Keimklappen; × × die sie trennende, der Scheidewand entsprechende Rippe mit der Leitbündelspur. — Etwa 4mal vergrößert.

beträgt 22,7 mm, die Breite bis 21 mm und der kleinere Durchmesser 18,4 mm. Die 7 flachen Rippen sind 3,4—4 mm breit. Mit dem erstbeschriebenen Fundstück teilt das Fossil die Beschaffenheit der Keimklappen, deren Breite mit 3,3—4,5 mm allerdings etwas geringer ist. Ihre Skulptur und Furchung lassen keine Unterschiede erkennen. Auch die Leitbündelrinnen der Rippen und die subapikale Innervation der Fächer sind übereinstimmend entwickelt. An der Basis ist eine lochartige Grube angedeutet, deren Vorhandensein auf einen Zentralkanal des Endokarps hinweist.

Am Aufbau der flachen Rippen dieser Fossilien beteiligen sich nicht nur die Scheidewände, sondern auch die Flanken der Keimklappen. Die an beiden Fundstücken zu bemerkende, besondere Breite je eines dieser zungenförmigen Gebilde deutet nach dem Beispiel der durch klappige Dehiszenz bezeichneten mehrfächerigen Steinkerne von Gewächsen der verschiedensten Zugehörigkeit auf die Lage des fruchtbaren Faches.

Grundlagen der Bestimmung.

Nach diesen Einzelheiten stammen die Fossilien von 6- und 7fächerigen Steinkernen mit kaum hervortretenden flachen Rippen, zwischen ihnen liegenden gestreckten Fächern und der Länge folgenden zungenförmig ausgebildeten Keimklappen. Von der Spitze absteigende Leitbündel bewirkten die Innervation der Plazenten, so daß hängende Samenanlagen anzunehmen sind. Die den Scheidewänden entsprechenden Rippen waren mit je einem Längsleitbündel oder Faserstrang belegt. Ferner ist eine axiale Innervation des Endokarps wahrscheinlich. Nach dem Zeugnis der punktförmigen Gruben dürften sich in den Keimklappen diesen Gebilden entsprechende Lakunen befunden haben. Offenbar waren die Steinkerne durch Fehlschlagen einsamig; auf die Lage des fruchtbaren Faches verweist die besonders breite Keimklappe.

Steinkerne dieses Bauplanes finden sich bei den Gattungen der Humiriaceen. Sie vertreten aber entgegen der von SELLING (1945, S. 258) bekundeten Ansicht keinen besonders seltenen Typus der Dehiszenz. Vielmehr hat HILL (1933, S. 820 bis 821) sein Vorkommen für Gattungen aus Familien verschiedener Reihen der Dikotyledonen nachgewiesen (vgl. auch 1937, S. 255/256). Allerdings erstrecken sich die Keimklappen der mehrfächerigen Steinkerne bei der Mehrzahl dieser Formen nicht über die gesamte Länge des Endokarps (z. B. *Cornus*, *Davidia*, *Canarium*[1]). Eine auch in dieser Einzelheit übereinstimmende Dehiszenz ist für *Tectona* nachgewiesen. Ferner besitzen die als *Spondylostrobus Smythii* v. MÜLLER beschriebenen, irrtümlich auf *Sacoglottis* bezogenen 3—6fächerigen Steinkerne der gesamten Länge folgende Keimklappen.

Der eingehende Vergleich der Fossilien aus dem Basalttuff des Eichelskopfes mit den Steinkernen von Gattungen verschiedener Familien hat ergeben, daß nur das Endokarp der Humiriaceen sämtliche Merkmale ihrer Beschaffenheit vereinigt. Die wesentlichen Unterschiede gegenüber den anderen Gewächsen werden durch die nachstehenden Angaben erläutert:

a) Cornaceen. — Nach meinen Feststellungen zeigen die Steinkerne dieser Familie mit Ausnahme von *Curtisia* keine axiale Innervation (vgl. 1938b, S. 1—8). Bei *Cornus* beschränkt sich die Keimklappe auf die oberen zwei Drittel des Endokarps; auch für *Davidia* wurde diese Eigenschaft festgestellt. Die Keimklappen der Mastixioideen-Steinkerne erstrecken sich zwar bis zu ihrer Basis. Sie sind aber

[1] Mit der Dehiszenz solcher Steinkerne habe ich mich wiederholt beschäftigt (u. a. 1938a, S. 504; 1948, S. 85—102).

durch die an der Rückenseite des Endokarps befindliche Einfaltung von den Fossilien verschieden. Bei keiner Gattung der Cornaceen wurde eine ihnen entsprechende Innervation der Plazenten angetroffen. Den Harzbehältern von *Sacoglottis* vergleichbare Lakunen habe ich u. a. für das Endokarp einiger *Cornus*-Arten beschrieben (1948, S. 90—92).

b) Burseraceen. — Bei *Canarium* erstrecken sich die Keimklappen ebenfalls lediglich über die oberen zwei Drittel des Endokarps. Eine axiale Innervation ist sowohl bei dieser Gattung vorhanden als auch für andere Vertreter der Familie nachgewiesen. Indessen fehlen die von der Spitze unter den oberen Rand der Keimklappen führenden Leitbündelspuren. Die vom zentralen Leitbündel abzweigenden Stränge führen durch die Bauchwand der Fächer zu ihren zwei hängenden Samenanlagen (vgl. auch REID und CHANDLER 1933, S. 266/267). Den Harzbehältern von *Sacoglottis* entsprechende Gebilde sind mir nur für das Exokarp der Burseraceen bekannt.

c) Verbenaceen. — Die Steinkerne von *Tectona* besitzen weder eine axiale Innervation noch zeigen sie subapikale Leitbündelspuren. Den Früchten der Verbenaceen fehlen die im Endokarp mancher *Sacoglottis*-Arten vorhandenen Harzbehälter.

Abgesehen von den wesentlichen Merkmalen der Dehiszenz und der Innervation sind die Fossilien auch nach den sonstigen Einzelheiten von den Steinkernen der erwähnten Gewächse verschieden. Ihre Übereinstimmung mit dem Endokarp der Humiriaceen wird durch den eingehenden Vergleich erläutert. In neuerer Zeit haben besonders REID (1933, S. 211/212), WEYLAND (1938, S. 156) und SELLING (1945, S. 261 bis 262) die Steinkerne heutiger Vertreter der Familie untersucht. Die Ergänzung der älteren Angaben durch eigene Analysen hat für das Endokarp der Früchte ihrer Gattungen die nachstehenden wichtigen Einzelheiten ergeben:

a) Humiria. — Die bis 8fächerigen Steinkerne der 6 heutigen Arten besitzen eine gestreckte Gestalt und erreichen lediglich 18 mm Länge. Das Endokarp zeigt in erodiertem Zustand die subapikalen Leitbündelspuren. Die Fächer enthalten in der Regel zwei übereinander stehende Samenanlagen. Durch Fehlschlagen ist die Mehrzahl der Steinkerne einsamig geworden. Lakunen oder Harzbehälter habe ich selbst im Endokarp der *Humiria balsamifera* (AUBLET) J. ST. HILAIRE nicht bemerkt.

b) Sacoglottis. — Die Steinkerne sind 4—7fächerig, ± kugelig bis gestreckt gestaltet, fast glatt oder unregelmäßig gerippt. Von den mir bekannten Arten entwickeln *Sacoglottis amazonica*, *S. gabonensis*, *S. dentata* (CASARETTO) URBAN und *S. macrophylla* (BENTHAM) URBAN über 20 mm lange Steinkerne; bei *S. amazonica* und *S. macrophylla* erreichen sie eine Länge von über 40 mm. Das Endokarp dieser Gewächse führt rundliche oder etwas gestreckte Lakunen mit einem größten Durchmesser von 4 mm. Sie sind mit Luft gefüllt oder enthalten einen harzartigen Stoff. Gewöhnlich erscheint die Substanz der Keimklappen

durch diese Gebilde löcherig; in den Scheidewänden besitzen sie häufig eine geringere Größe und treten an Zahl zurück. Der einzige mir bekannte Steinkern der *Sacoglottis cuspidata* (BENTHAM) URBAN nähert sich bei einer Länge von 16 mm der Kugelform. In seinem Endokarp befinden sich keine Lakunen. Subapikale Leitbündelspuren sind bei der Mehrzahl der gedrifteten Steinkerne festzustellen. Die axiale Innervation wird im Querschnitt deutlich. In den Fächern befindet sich gewöhnlich je eine Samenanlage. Durch Abort sind die Steinkerne ein- oder zweisamig geworden.

c) Vantanea. — Die 5- oder 6fächerig angelegten Steinkerne der *Vantanea cuplaris* HUBER et DUCKE sind 20—32 mm lang und 12 bis 20 mm breit. Sie zeigen einen mit *Humiria* und *Sacoglottis* übereinstimmenden Typus der Innervation. Die Fächer enthalten gewöhnlich zwei übereinander stehende Samenanlagen, deren Zahl und Plazentation demnach den Verhältnissen bei *Humiria* entsprechen. Durch Abort sind die Steinkerne fast sämtlich einfächerig geworden. Das Endokarp zeigt keine Lakunen. Nach den Angaben des Schrifttums sind die Steinkerne bei der Mehrzahl der Arten größer als die der *Vantanea cupularis* und erreichen eine Länge von nahezu 100 mm (vgl. auch SELLING 1945, S. 261).

Die Gestalt und Skulptur der aus der Seedrift entnommenen, den Fossilien in der Erhaltung vergleichbaren Steinkerne der heutigen Humiriaceen ist vom Grad der Erosion abhängig. Durch diesen Vorgang werden bei *Sacoglottis* die Lakunen des Endokarps eröffnet, seine löcherige Beschaffenheit offenbart und die Scheidewände deutlich. Die Abgrenzung der Keimklappen tritt besser hervor als an den künstlich vom Exokarp befreiten Steinkernen. Allerdings geht die Skulptur ihrer Oberfläche verloren. Gestreckte Steinkerne können zu einer nahezu kugeligen Form abgerieben werden. Die besonders bei *Humiria* und *Sacoglottis* unterhalb der Spitze des Endokarps befindlichen, der Lage und Zahl seiner Fächer entsprechenden Gruben sind fast stets bis auf die absteigenden Leitbündelspuren erodiert.

Mit den Steinkernen der Humiriaceen teilen die Fossilien den Typus der Dehiszenz und Innervation. Da der innere Bau keiner Analyse zugänglich ist, kann die für die Systematik der Familie wichtige Zahl der Samenanlagen in den Fächern nicht bestimmt werden. Die Maße der Fossilien und manche Einzelheiten ihrer äußeren Beschaffenheit lassen sie den Steinkernen von *Sacoglottis* besonders ähnlich erscheinen. Ohne Zweifel deuten die punktförmigen Gruben auf Lakunen, die dem Endokarp von *Humiria* und *Vantanea* nach meinen Feststellungen fehlen. Auch das für *Sacoglottis* bemerkte Zurücktreten dieser

Harzbehälter im Bereich der Scheidewände ist an den Fossilien wahrzunehmen. Ferner bilden die unter ihrer Basis als Höcker hervortretenden Rippen ein Merkmal, das mir nur bei erodierten Steinkernen von *Sacoglottis* aufgefallen ist. Demnach sollen die Reste aus dem Basalttuff des Eichelskopfes zu dieser Gattung der Humiriaceen gestellt werden.

Die den Humiriaceen zugewiesenen Fossilien anderer Vorkommen.

Die von SELLING (1945, S. 257—269) veröffentlichten Bemerkungen über die aus dem südamerikanischen Tertiär beschriebenen Steinkerne dieser Familie können besonders hinsichtlich *Sacoglottis* und *Vantanea* ergänzt werden. Ferner bedarf die „*Sacoglottis germanica*" einer erneuten Betrachtung, da meine 1938 veröffentlichte Kritik an der für ihre Reste vermuteten Zugehörigkeit keine Beachtung fand.

a) Humiria. — Die von BERRY (1925, S. 64—66 und Abb. 20—22; 1929a, S. 6 und Tafel 1, Fig. 1—5) als *Sacoglottis cipaconensis* beschriebenen, 17,5—22,5 mm großen, 5—8fächerigen Fossilien aus dem älteren Tertiär Kolumbiens hat SELLING auf *Humiria* bezogen. Auch die in einer etwa gleichalterigen Ablagerung von Peru gefundenen, durch BERRY (1927, S. 124—126 z. T. und Tafel 20, Fig. 8—16; 1929b, S. 155—157 z. T. und Tafel 1, Fig. 14—18) als Varietät dieser Form bezeichneten, 11—33,5 mm langen Reste sollen die gleiche Zugehörigkeit besitzen. SELLING (1945, S. 262—265) hat sie unter *Humiria peruviana* zum Typus einer besonderen Art erhoben. Die Unterschiede gegenüber der *Humiria cipaconensis* (BERRY) SELLING aus Kolumbien können nach den auch von SELLING (1945; Abb. 13—22) wiedergegebenen bildlichen Darstellungen diese Trennung nicht begründen[1].

Ferner zeigen die von SELLING (1945, S. 258—262; Abb. 1—12) als *Humiria bahiensis* beschriebenen Steinkerne aus einer dem jüngeren Tertiär angehörenden Ablagerung in Brasilien keine Merkmale, die für ihre artliche Selbständigkeit zeugen könnten. Die geringen Unterschiede der Gestalt und Größe zwischen den Steinkernen der drei südamerikanischen Vorkommen lassen sie vielmehr als Reste einer Form erscheinen. Als *Humiria bahiensis* hat SELLING einen besonders gestreckten, nach der Spitze deutlich verjüngten Steinkern bezeichnet. Die unterschiedliche Zahl der Fächer ist kein trennendes Merkmal, da sie auch bei einer heutigen Art zwischen 4 und 8 schwanken kann. Die Gestalt der Steinkerne wird von der Erosion beeinflußt.

An der Herkunft dieser Fossilien von *Humiria* besteht kein Zweifel, da das kleine Endokarp der *H. bahiensis* zweisamig angelegte Fächer enthält. Auch die von BERRY auf *Sacoglottis* bezogenen Formen unter-

[1] Das vollständige Schrifttum über die beiden Formen hat SELLING (1945, S. 264/265) nachgewiesen.

scheiden sich von den Steinkernen der meisten *Vantanea*-Arten durch die geringe, 35 mm nicht erreichende Größe; allerdings konnte die Zweisamigkeit ihrer Fächer nur wahrscheinlich gemacht werden. Ferner sei auf das Fehlen von deutlichen Harzbehältern im Endokarp dieser Fossilien und der *Humiria bahiensis* hingewiesen[1]. Sie sind für die größeren Steinkerne der Mehrzahl der Arten von *Sacoglottis* bezeichnend.

b) Sacoglottis. — Nach dem Ausschluß von *Sacoglottis cipaconensis* und der peruanischen Form verbleiben lediglich zwei Arten des südamerikanischen Tertiärs bei dieser Gattung. Die von Berry (1922a, S. 129/130 und Abb. 1a—c; 1922b, S. 178—180 und Tafel 8, Fig. 5—11) als *Sacoglottis tertiaria* beschriebenen Fossilien aus einem im Pliozän entstandenen vulkanischen Tuff Boliviens sind 5fächerig, ungefähr 20 bis 22,5 mm lang, 16—19 mm breit und zeigen 1—2 mm große rundliche Harzbehälter[2]. Die Zugehörigkeit dieser durch die grobhöckerige Beschaffenheit den erodierten Steinkernen der heutigen *Sacoglottis amazonica* ähnlichen Fundstücke kann keinem Zweifel unterliegen.

Von Reid (1933, S. 210—212; Tafel 14, Fig. 1 und 2) wurde ein 30 mm langes, bis 26 mm breites 5fächeriges Fossil aus dem älteren Tertiär Kolumbiens als *Sacoglottis costata* beschrieben[3]. Seine Klappen zeigen große kugelige Harzbehälter; in den Scheidewänden sind diese Gebilde spärlicher verteilt und von geringerer Größe. An der Basis des Endokarps befindet sich die Spur des auf die axiale Innervation deutenden Zentralkanals. Von der *Sacoglottis tertiaria* unterscheidet sich diese Form besonders durch die unregelmäßig gerippte Oberfläche, die in ähnlicher Beschaffenheit bei den kleineren Steinkernen der heutigen *S. cuspidata* entwickelt ist. Ferner kann auf die gegenüber der *Sacoglottis amazonica* und im Vergleich zu *S. tertiaria* geringere Zahl der Harz-

[1] Weyland (1938, S. 178) hat für „*Sacoglottis cipaconensis*" sehr kleine Harzbehälter angegeben. Die Figuren 6—8 seiner Tafel 18 können mich nicht überzeugen, daß den großen Lakunen von *Sacoglottis* entsprechende Elemente vorkommen. — Für die von Berry (1927, S. 125 und 132) in einem Steinkern aus Peru vereinzelt bemerkten „small secretory cavities" gelten die gleichen, auch durch die Abbildung bestärkten Zweifel (Tafel 20, Fig. 16). Später hat der Autor ausdrücklich auf das Fehlen von Harzbehältern im Endokarp der nunmehr zu *Humiria* gestellten südamerikanischen Fossilien hingewiesen. — Übrigens werden die Keimklappen der Humiriaceen-Steinkerne und des *Spondylostrobus Smythii* von Weyland irrtümlich als Karpelle angesprochen.

[2] Schon Reid (1933, S. 211) konnte bemerken, daß Berry die Keimklappen der Fächer fälschlich als Samen beschrieben hat.

[3] Das mit dieser Form gefundene *Colombicarpum biloculare* Reid (1933, S. 212 bis 214; Tafel 14, Fig. 10—13) gehört nach meiner schon 1936 ausgesprochenen Ansicht zu der Anacardiaceen-Gattung *Cyrtocarpa* H.B.K. und ist von den Steinkernen der heute auf Mexiko beschränkten einzigen Art *C. procera* H.B.K. nicht verschieden (S. 102; vgl. auch 1938a, S. 502).

behälter hingewiesen werden. Der Grad der Erosion ist bei *Sacoglottis costata* offenbar mäßiger als bei den unter *S. tertiaria* beschriebenen Fossilien. Auch die Fundstücke aus dem Basalttuff des Eichelskopfes sind nur wenig und besonders an der Spitze abgerollt, da sie auf den Rippen die Leitbündelspuren zeigen und die in ihren Keimklappen befindlichen Harzbehälter kaum bloßgelegt erscheinen.

Die Unterschiede dieser Fossilien gegenüber den beiden Formen aus dem südamerikanischen Tertiär sind erheblich. Das Endokarp der *Sacoglottis tertiaria* führt wesentlich größere und zahlreichere Harzbehälter[1]. Von dem unregelmäßig gerippten Steinkern der *Sacoglottis costata* unterscheiden sich die Reste der *S. Kayseri* besonders durch bis auf die wenig hervortretenden Scheidewände glatte Oberfläche. Demnach kann von weiteren Erörterungen über die Möglichkeit einer artlichen Identität mit den südamerikanischen Formen abgesehen werden.

WEYLAND (1938, S. 153—156 und 159; Tafel 17; Tafel 18, Fig. 1—5; Tafel 20, Fig. 3—8) hat für das rheinische Tertiär eine *Sacoglottis germanica* beschrieben. Jedoch konnte ich feststellen, daß die mit diesem Namen belegten Fruchtreste aus den unter Basalt begrabenen Goldseifen des südöstlichen Australiens stammen und nur fälschlich als europäische Fossilien galten. Sie sind mit den durch v. MÜLLER (1874, S. 7—9 und 27; Tafel 1) als *Spondylostrobus Smythii* beschriebenen Fundstücken identisch[2]. Ferner habe ich eingehend begründet, daß diese 3—6fächerige Steinkernform entgegen der Ansicht WEYLANDS, obwohl von vergleichbarer Dehiszenz, nicht zu *Sacoglottis* gehören kann (1938a, S. 499—504). Sie unterscheidet sich von den Steinkernen dieser Gattung und der übrigen Humiriaceen durch den abweichenden Typus der Innervation und die verschiedene Gestalt der Samen. Ungeachtet dieser Sachlage hat HIRMER (1942, S. 535) die Fossilien aus den australischen Goldseifen als „*Sacoglottis Smythii* (v. MÜLLER) WEYLAND" bezeichnet und übergeht meine bereits 1938 veröffentlichte Feststellung, nach der ein Vorkommen von *Sacoglottis* in der Tertiärflora Australiens durch die unter *Spondylostrobus Smythii* beschriebenen Reste nicht bewiesen wird[3]. Auch FLORIN 1940, S. 55) erwähnt diese durch v. MÜLLER irrtümlich auf eine erloschene Cupressaceen-Gattung bezogenen Fossilien, ohne meine Darlegungen zu berücksichtigen. SELLING (1945, S. 258) hat erst nach dem Erscheinen seiner Abhandlung

[1] Übrigens hat BERRY (1922b) diese Art in der Tafelerklärung als *Sacoglottis pliocenica* bezeichnet (S. 202).

[2] Die mit den Resten von *Spondylostrobus Smythii* gefundenen, durch v. MÜLLER (1874, S. 10; Tafel 2) als *Phymatocaryon Mackayi* beschriebenen Steinkerne habe ich nach eingehender Analyse schon 1935 auf *Elaeocarpus* L. bezogen (S. 179—182; Abb. 3—5). Nunmehr ist nachzutragen, daß schon DEANE (1925, S. 491; Tafel 69, Fig. 13—16) die dieser Gattung entsprechende Form der Dehiszenz bemerkt hat (vgl. auch EDWARDS und WONNACOTT 1928, S. 45).

[3] Entgegen der wohl auf WEYLAND zurückgehenden HIRMERschen Angabe ist ein urwüchsiges Vorkommen von *Sacoglottis* in Mittelamerika unbekannt. Die an der Küste des südlichen Trinidad gedeihenden wenigen Exemplare der *Sacoglottis amazonica* dürften auf einer durch die Orinocodrift vom benachbarten Festland bewirkten Zufuhr von Früchten mit keimfähigen Samen zurückgehen.

über die Reste von *Humiria* bemerkt, daß ich „*Sacoglottis germanica*" von der Zugehörigkeit zu den Humiriaceen schon 1938 ausschließen mußte[1].

c) Vantanea. — Blattreste von zwei Vorkommen des Eozäns im südöstlichen Nordamerika hat BERRY (1916, S. 252; Tafel 54, Fig. 6) als *Vantanea wilcoxiana* beschrieben und mit dem Laub der heutigen *V. paniculata* URBAN verglichen. Ein Beweis für das Auftreten der Gattung kann aus ihnen nicht abgeleitet werden. Dagegen sind die von BERRY (1924, S. 259; Tafel 18, Fig. 3) als *Vantanea colombiana* beschriebenen, etwa 30 mm langen und ungefähr 20 mm breiten Fossilien aus dem älteren Tertiär Kolumbiens sichere Reste eines Gewächses der Humiriaceen. Sie fanden sich mit den von SELLING zu *Humiria* gestellten, unter *Sacoglottis cipaconensis* BERRY mitgeteilten Steinkernen. Das Endokarp der *Vantanea colombiana* führt große, ± kugelige Harzbehälter, die bei dem abgebildeten Fundstück durch Erosion zum Teil geöffnet sind. Ihr Vorkommen steht dem von BERRY getätigten Vergleich mit den Steinkernen der heutigen *Vantanea cupularis* entgegen, da nach meinen Feststellungen bei dieser Art keine entsprechenden Gebilde auftreten. Die schon durch WEYLAND (1938, S. 158/159) vermutete Herkunft von *Sacoglottis* ist wahrscheinlich, muß aber durch eine Feststellung der Zahl der Samenanlagen in den Fächern geprüft werden.[2] Von den nunmehr *Humiria cipaconensis* benannten Fossilien des gleichen Vorkommens ist die *Vantanea colombiana* wesentlich verschieden.

Mit den zahlreichen Resten der *Humiria peruviana* fand sich ein 45 mm langes und bis 28 mm breites Fossil, das BERRY (1929b, S. 157/158; Tafel 1, Fig. 25 und 26) als Steinkern von *Vantanea* deutet und als *V. compressiformis* beschrieben hat. Der innere Bau wurde nicht untersucht; seine rauhe Oberfläche soll die Spur des „Hilums" zeigen. Diese Einzelheiten sind nicht geeignet, die Herkunft des Fundstückes von einer Gattung der Humiriaceen selbst nur vermuten zu lassen.

Ein 32 mm langes und bis 24 mm breites Fossil aus dem älteren Tertiär von Ecuador hat BERRY (1929c, S. 300/301; Abb. 4 und 5) als *Vantanea Sheppardii* beschrieben. Dieses Fundstück soll der *Vantanea colombiana* ähneln, aber im Gegensatz zu ihrem Endokarp keine Harzbehälter führen. Indessen dürfte der innere Bau des kohlig erhaltenen Steinkerns nicht untersucht worden sein, so daß seine Zugehörigkeit keiner Beurteilung unterliegen kann. Die als „somewhat roughly fibrous" beschriebene Oberfläche ist ebenfalls ungeeignet, für die Herkunft von *Vantanea* zu zeugen. Nach diesen Feststellungen bedarf der Nachweis des zu erwartenden Auftretens von Resten der Gattung im südamerikanischen Tertiär neuer Befunde.

Durch die neue Deutung der Fossilien aus dem Basalttuff des Eichelskopfes wird nicht nur das früher angenommene Vorkommen einer

[1] SELLING ist ebenfalls von der Tatsache überzeugt, daß „*Spondylostrobus Smythii*" nicht zu den Humiriaceen gehört. Eine Deutung konnte ich nicht finden, glaube aber an eine Verwandtschaft mit den Burseraceen. Nach einer brieflichen Äußerung vom 10. 11. 50 teilt auch SELLING diese Ansicht, ist sich aber gewisser Unterschiede gegenüber den Steinkernen ihrer Gattungen bewußt.

[2] Irrtümlich hat WEYLAND (1938, S. 160) diese Form und andere Reste mehrfach als Fossilien des „tropischen Mittelamerikas" bezeichnet.

Verwandten der heute auf das südwestliche Australien beschränkten Cupressaceen-Gattung *Actinostrobus* MIQUEL im hessischen Tertiär widerlegt (vgl. FLORIN 1940, S. 83 und 91). Vielmehr ist mit *Sacoglottis Kayseri* die erste Form einer gegenwärtig durch das Hauptverbreitungsgebiet im tropischen Amerika und ein kleineres westafrikanisches Areal bezeichneten Familie einwandfrei festgestellt. Die von VESTER (1940, S. 526—529) erwähnten übrigen Familien dieser Gruppe des bikontinentalen Arealtypus haben keine sicheren Reste im europäischen Tertiär hinterlassen. Der tropische Charakter der gegenwärtigen Humiriaceen und das Vorkommen von *Sacoglottis* im Bereich von Ästuarien erteilen ihrem Nachweis für die erdgeschichtliche Vergangenheit des nördlichen Hessens eine besondere Bedeutung. Der Wert von *Sacoglottis Kayseri* für die Beurteilung wichtiger Probleme der genetischen Pflanzengeographie bedarf mit Rücksicht auf das heutige Areal der Familie und ihre Verbreitung während des Tertiärs keiner Erläuterung (vgl. auch SUESSENGUTH 1938, S. 39 und 60/61). Jedenfalls ist die von BERRY (1922a, S. 129; 1924, S. 260; 1927, S. 126) wiederholt vertretene Annahme eines südamerikanischen Indigenates der Humiriaceen und ihrer späteren Ansiedelung, die durch eine der jetzigen Passatdrift entgegengesetzte Meeresströmung bedingt wäre, nunmehr abzulehnen, da *Sacoglottis* im Tertiär auch der europäischen Flora angehört hat. Vielmehr ist anzunehmen, daß die Humiriaceen mit *Sacoglottis* bereits in Afrika heimisch waren, als die Kontinente zu ihrer gegenwärtigen Gestalt gelangten. Das historische Areal der Familie hat eine im Vergleich zu dem heutigen Vorkommen wesentlich größere Ausdehnung besessen. Ein während des Tertiärs bestehender südatlantischer Zusammenhang zwischen Westafrika und dem nordöstlichen Südamerika ist auch nach anderen Gegebenheiten nicht unwahrscheinlich.

Von WINKLER (1931) werden *Sacoglottis* und ihre Verwandten den Linaceen zugewiesen. Indessen fehlen den Gattungen dieser Familie innere Sekretbehälter, die im Endokarp der an harzartigen Stoffen reichen Humiriaceen häufig auftreten. Eine Verwandtschaft mit den ebenfalls zur Reihe der Geranialen gehörenden, in Südamerika und Westafrika verbreiteten Burseraceen ist wahrscheinlich. In der Rinde der Gewächse dieser Zugehörigkeit sind stets Harzgänge vorhanden; alle Teile enthalten ±-aromatische und harzige Stoffe (vgl. ENGLER 1931, S. 404—407). Ferner ist zu bemerken, daß bei den eigentlichen Linaceen keine den Steinfrüchten der Humiriaceen entsprechende Formen vorkommen. Dagegen wurde für die Burseraceen auf die gleichfalls axiale Innervation und die sehr ähnliche Dehiszenz des mehrfächerigen Endokarps eines Teiles ihrer Gattungen hingewiesen. Auch MAURITZON (1934, S. 420—422) hat bemerkt, daß die Embryologie der Humiriaceen

den für die Linaceen festgestellten Verhältnissen nicht entspricht. Das Vorkommen anatroper, krassinuzellater und bitegmischer Samenanlagen ist nach meinen Erhebungen auch für *Carnarium* unter den Burseraceen bezeichnend.

Über das Alter des Basalttuffes vom Eichelskopf.

Der Nachweis von *Sacoglottis* soll zur Veranlassung genommen werden, die verschiedenen Ansichten über das Alter des besonders durch seine Blattabdrücke bekannten Vorkommens zu beurteilen. SCHINDEHÜTTE (1907, S. 77) hat ihm eine „verhältnismäßig tiefe Stelle innerhalb des Miozäns" angewiesen. Mir ist das Hervortreten der Reste lederartiger Laubblätter mit deutlicher Träufelspitze und von altertümlichem Charakter aufgefallen (1929, S. 631 und 634). Aus der Betrachtung der SCHINDEHÜTTEschen Tafeln kann man bereits den Eindruck gewinnen, daß der Formenbestand des Basalttuffes vom Eichelskopf selbst gegenüber der Flora des dem Aquitan angehörenden Blättersandsteines der Wetterau ein höheres Alter anzeigt. Durch WEYLAND (1934, S. 28/29) wird das Vorkommen, allerdings nicht ohne Zweifel, dem oberen Oligozän zugewiesen und soll den nach tierischen Fossilien der Chattischen Stufe angehörenden Braunkohlenschichten zeitlich entsprechen (vgl. auch 1940, S. 114). Ungefähr gleichaltrige Floren sind von Rott und Kreuzau im Rheinland bekannt.

Aus dem Basalttuff des Eichelskopfes konnte ich einen der Herkunft von einer Gattung der Mastixioideen verdächtigen Fruchtrest mitteilen (1936, S. 116; Abb. 23). Dieses von SCHINDEHÜTTE (1907, S. 34) als *Quercus* sp. bezeichnete Fundstück hat mich zu der Ansicht bewogen, daß sein Vorkommen den durch das Auftreten der Fossilien dieser Gewächse bezeichneten, während des mittleren und oberen Oligozäns entstandenen Braunkohlenschichten gleichaltrig ist. Die Nachforschungen der folgenden Jahre haben für den Basalttuff des Eichelskopfes keine weiteren Reste von Mastixioideen ergeben. Der im alten Schrifttum wiederholte Hinweis auf das Vorkommen von „Eicheln" läßt nach dem Beispiel anderer Örtlichkeiten gelegentliche Funde vermuten[1].

[1] Allerdings ist das von LANDGREBE (1842, S. 813—816; Tafel 11, Fig. A 1—3) in einer den früheren Autoren entgangenen Schrift als *Dryobalanus basalticus* bezeichnete, mit einer *Quercus*-Kupula verglichene Fossil nach meiner Ansicht der Rest des Fruchtbechers eines Gewächses der Lauraceen. Diese Deutung scheint mir auch für das von LUDWIG (1858, S. 158; Tafel 33, Fig. 6) als kupulierte, spitzkonische Eichel abgebildete Fundstück angemessener zu sein. Unzweifelhaft von mehreren Gattungen der Lauraceen stammende Blattabdrücke sind im Basalttuff des Eichelskopfes häufig gefunden worden (z. B. SCHINDEHÜTTE 1907, S. 41—56; Tafel 6, Fig. 4 und Tafel 7—10). Mit den Blättern der Humiriaceen vergleichbare Fossilien habe ich nicht feststellen können. — Die mir bekannten sonstigen Frucht- und Samenreste des Vorkommens sind mit einer Ausnahme nicht sicher bestimmbar. Der von SCHINDEHÜTTE (1907, S. 40) erwähnte Gesteinskern des von einem *Magnolia*-Samen hinterlassenen Hohlraumes ist an der Beschaffenheit der Chalazaregion zu erkennen (Geologisches Institut der Universität Marburg).

Ungeachtet dieser Äußerungen über ein höheres Alter wird der Basalttuff des Eichelskopfes im neueren Schrifttum vorwiegend dem Miozän zugewiesen. Auch BLANCKENHORN hat diese Ansicht geteilt. In der von ihm hinterlassenen Abhandlung über das niederhessische Tertiär wird das Vorkommen zwar nicht besonders behandelt, aber mit den anderen Basalten und Tuffen des Knüllgebirges in das obere Miozän gestellt (1950, S. 50—55).

Mit *Sacoglottis Kayseri* ist für den Basalttuff des Eichelskopfes das Vorkommen eines Gewächses aus einer heute auf feuchtheiße Gebiete der Tropenzone beschränkten Familie nachgewiesen. Ihr Auftreten in Mitteleuropa während des Miozäns ist mit dem wohlbekannten Charakter der Flora dieser Zeit nicht zu vereinbaren. Dagegen erscheint das einstige Gedeihen von *Sacoglottis* in Gesellschaft der Mastixioideen durchaus möglich. Nach den von mir mitgeteilten Einzelheiten erstreckt sich das heutige Areal dieser Gewächse vorwiegend über feuchtheiße Gebiete des südlichen Asiens (1943, S. 17—19 und 26—30). Allerdings sind sie nicht nur Bewohner der Flachländer, sondern auch in mittleren Gebirgslagen zu finden. Solche Standorte kennt man für einzelne Arten von *Humiria* und *Vantanea* ebenfalls[1]. Jedenfalls bestätigt der Nachweis von *Sacoglottis* den aus den Blattabdrücken ersichtlichen altertümlichen Charakter der Flora des Eichelskopfes. Der Basalttuff dieses Vorkommens kann nicht jünger als die von mir nach den Resten der Mastixioideen dem Oligozän eingestuften Braunkohlenschichten sein. Für das Rheinland, den Westerwald und die Lausitz beweisen die aus Tuffen geborgenen Säugerreste, daß der Vulkanismus bereits während des jüngeren Abschnittes dieser Zeit eingesetzt hatte. Im nördlichen Hessen dürfte sein Beginn ebenfalls vor dem Miozän liegen.

Während der Drucklegung dieser Abhandlung habe ich von Herrn C. W. KOCKEL weitere Fruchtreste aus dem Basalttuff des Eichelskopfes erhalten. Sie gehören zu einer im Besitz des Herrn Baurat a. D. MILDE (Nentershausen b. Bebra) befindlichen Sammlung. Wichtig ist ein 1918 von E. WAMBACH gefundenes, etwa 13 mm langes Bruchstück der Keimklappe eines Mastixioideen-Steinkernes. Man erkennt die Innenseite mit der ungefähr 6 mm breiten Einfaltung. Ähnlich erhaltene Keimklappenreste sind mir z. B. aus dem Sandstein von Nirm bei Aachen bekannt. Dieses Fundstück ist geeignet, das *Auftreten von Fossilien der Mastixioideen im Basalttuff des Eichelskopfes und meine Ansicht über das höhere Alter des Vorkommens zu beweisen.*

[1] Wenige Vertreter dieser Gattungen gedeihen nicht unter den Verhältnissen des Regenwaldes, sondern im Bereich der Savannen (z. B. *Humiria savannarum* GLEASON).

Zusammenfassung.

Aus einem in Niederhessen anstehenden Basalttuff hat SCHINDEHÜTTE (1907) mit *Actinostrobus* verglichene, angebliche Cupressaceen-Zapfenreste mitgeteilt. Nach dem Ergebnis der Revision der Belegstücke stammen diese Fossilien von den Steinkernen einer Gattung der Humiriaceen. Sie werden eingehend beschrieben, mit den Früchten der heutigen Vertreter verglichen und auf *Sacoglottis* bezogen.

Der Nachweis dieser Gattung im europäischen Tertiär ist bedeutsam, da die Humiriaceen gegenwärtig auf heißfeuchte Gebiete des nordöstlichen Südamerikas und Westafrikas beschränkt sind. Die bislang beschriebenen Fruchtreste der Familie fanden sich im nördlichen Südamerika.

Nach dem Bau der Früchte sind die Humiriaceen keine Unterfamilie der Linaceen. Vielmehr dürften ihre nächsten Verwandten unter den Burseraceen zu suchen sein. Das Vorkommen der Reste einer Gattung dieser Gewächse der heutigen Tropenflora in dem gewöhnlich zum Miozän gestellten Basalttuff des Eichelskopfes erteilt einen weiteren Hinweis auf seine Entstehung während des älteren Tertiärs.

Literatur.

BERRY: The Lower Eocene floras of southeastern North America. U.S. Geol. Surv. P. P. **91** (1916). — *Sacoglottis*, recent and fossil. Amer. J. Sci., V. s. **20** (1922a). — Pliocene fossil plants from Eastern Bolivia. John Hopkins Univ. Stud. Geology **4** (1922b). — New Tertic species of *Anacardium* and *Vantanea* from Colombia. Pan-Amer. Geologist **42** (1924). — Fossil fruits of the Eastern Andes of Colombia. Bull. Torrey bot. Club **51** (1925). — Petrified fruits and seeds from Oligocene of Peru. Pan-Amer. Geologist **47** (1927). — Tertiary fossil plants from Colombia, South America. Proc. U.S. nat. Mus. **75** (1929a). — Early Tertiary fruits and seeds from Belen, Peru. John Hopkins Univ. Stud. Geology **10** (1929b). — Fossil fruits in the Ancon sandstone of Ecuador. J. Paleontology **3** (1929c). — BLANCKENHORN: Das Tertiär Niederhessens. Notizbl. hess. Landesamt f. Bodenforsch. VI. F., **1** (1950). — DEANE: Tertiary fossil fruits from Deep Lead, Foster, South Gippsland. Rec. geol. Surv. Victoria **4** (1925). — EDWARDS u. WONNACOTT: Sapindaceae. Foss. Catalogus II, **14** (1928). — ENGLER: Burseraceae. Nat. Pflanzenfamilien, 2. Aufl., Bd. 19a (1931). — FLORIN: The Tertiary fossil Conifers of South Chile and their phytogeographical significance. Kungl. svenska Vetenskapsakad. Handl., III. S., **19** (1940). — HILL: The method of germination of seeds enclosed in a stony endocarp. Ann. of Bot. **47** (1933). — The method of germination of seeds enclosed in a stony endocarp II. Ann. of Bot., N. S. **1** (1937). — HIRMER: Die Forschungsergebnisse der Palaeobotanik auf dem Gebiet der känophytischen Floren. Bot. Jb. System. usw. **72** (1942). — KIRCHHEIMER: Träufelspitzige Regenblätter in einigen miozänen Tertiärfloren. Biol. Zbl. **49** (1929). — Palaeobotanische Mitteilungen I u. II. Zbl. Mineral., Geol., Paläont., Abt. B, **1935**. — Beiträge zur Kenntnis der Tertiärflora. Palaeontogr., Abt. B **82** (1936). — Palaeobotanische Mitteilungen V u. VI. Zbl. Mineral., Geol., Paläont. Abt. B, **1938**; (1938a). S. 505—507. Schrifttum über *Spondylostrobus Smythii*. — Cornaceae. Foss. Catalogus II, **23** (1938b). — Die Mastixioideen in der Flora der Gegenwart. Braunkohle **42** (1943). —

Über die Fachverhältnisse der Früchte von *Cornus* L. und verwandter Gattungen. Planta (Berl.) **36** (1948). — Landgrebe: Über eine im Basalt-Konglomerat des Knüllgebirges aufgefundene Frucht, *Dryobalanus basalticus*, aus der Familie der Kupuliferen. Neues Jb. Mineral., Geol., Paläont. **1842**. — Ludwig: Fossile Pflanzen aus dem Basalttuffe von Holzhausen, bei Homberg in Kurhessen. Palaeontogr. **5** (1858). — Mauritzon: Etwas über die Embryologie der Zygophyllaceen sowie einige Fragmente über die der Humiriaceen. Bot. Notiser Lund **1934**. — Müller, v.: Observations on new vegetable fossils of the auriferous drifts I. Melbourne u. London 1874. — Reid (E. M.): Note on some fossil fruits of Tertiary age from Colombia, South Amer. Rév. Géogr. phys. etc. **6** (1933). — Reid (E. M.), and Chandler: The London Clay flora. London 1933. — Schindehütte: Die Tertiärflora des Basalttuffes vom Eichelskopf bei Homberg (Bez. Kassel). Abh. preuß. geol. Landesanst., N.F. **54** (1907). — Selling: Fossil remains of the genus *Humiria*. Sv. bot. Tidskr. **39** (1945). S. 268/269. Schrifttum über rezente und fossile Humiriaceen. — Suessenguth: Neue Ziele der Botanik. München u. Berlin 1938. — Vester: Die Areale und Arealtypen der Angiospermen-Familien. Bot. Archiv **41** (1940). — Weyland: Beiträge zur Kenntnis der rheinischen Tertiärflora I. Abh. preuß. geol. Landesanstalt, N. F. **161** (1934). — Die fossilen *Sacoglottis*-Früchte und eine neue Art der Gattung, *Sacoglottis germanica* n. sp. Decheniana A **98** (1938). S. 163/164 Berichtigung. — Beiträge zur Kenntnis der rheinischen Tertiärflora IV. Palaeontogr., Abt. B, **84** (1940). — Winkler: Linaceae. Nat. Pflanzenfam. 2. Aufl., Bd. 19a (1931).

Prof. Dr. Franz Kirchheimer, Freiburg i. Br., Elsässerstr. 2.

Planta, Bd. 39, S. 91—120 (1951).

ÜBER DIE PERMEABILITÄT VON BEGGIATOA MIRABILIS FÜR ANELEKTROLYTE BEI NARKOSE MIT DEN HOMOLOGEN ALKOHOLEN C_1—C_9, ALS BEITRAG ZUR ULTRAFILTERTHEORIE*.

Von

WILHELM RUHLAND und URSULA HEILMANN.

(Eingegangen am 15. Januar 1951.)

A. Einleitung.

a) Allgemeines.

Die Ultrafiltertheorie (UFT.) fußte für das Hauptobjekt *Beggiatoa mirabilis* (*Bm*), vgl. RUHLAND und HOFFMANN (1926) sowie SCHÖNFELDER (1930), auf Versuchen mit Anelektrolyten, zu denen später noch 26 Elektrolyte hinzukamen (RUHLAND, ULLRICH und YAMAHA 1933). Das Wesentliche der UFT. war, daß die Permeation eine gehemmte Diffusion darstellt, und daß über die Durchtrittsgeschwindigkeit rein räumliche Beziehungen zwischen den Interstitien der Plasmagrenzschicht und der Molekelgröße der permeierenden Stoffe entscheiden[1].

Für diese Rolle der Plasmahaut lag das Bild eines Filters [Ultrafilters (RUHLAND 1912)] nahe, das aber gelegentlich beanstandet worden ist, so namentlich von H. FISCHER (1925) und neuerdings von WEEVERS (1949), aber nicht mit Recht. Denn, wie z. B. UMSTÄTTER (1948) ausführt, geht in die Filterdurchlässigkeit zwar außer den geometrischen Abmessungen nur noch die Viskosität als Materialkonstante ein, doch zeigt eine graphische Darstellung der Filtrationsgeschwindigkeit als Funktion der Porenweite das beträchtliche Absinken der ersteren mit Abnahme des Porenradius, so zwar, daß bei Poren, die noch um Zehnerpotenzen größer sind als die Moleküle, eine starke Verlangsamung der

* Die Versuche zur vorliegenden Arbeit wurden von 1937 ab von den Verff. im Botanischen Institut der Universität Leipzig mit längeren Unterbrechungen ausgeführt und im Jahre 1944 abgeschlossen. Für den Text und einen Teil der Versuche ist RUHLAND allein verantwortlich.

[1] Die UFT. nebst ihrer experimentellen Begründung wurde unter anderem auch von HÖBER (1926) abgelehnt. Wenig später fanden in seinem Kieler Institut MOND und HOFFMANN an Rinderblut-Erythrocyten (1928a) und Froschknorpelzellen (1928b), daß ätherunlösliche Stoffe, z. B. Saccharose, Glukose, Arabinose, Erythrit, Harnstoff, Glyzerin, Methylharnstoff gemäß ihrem MV permeieren. Diesen der UFT. entsprechenden Befunden wurde auch die ihr gemäße theoretische Interpretation als „Porenpermeabilität" gegeben, ohne Erwähnung unserer schon 1912 aufgestellten Theorie. In der neuesten Auflage des HÖBERschen Buches (1947) sind seine 1926 erhobenen Einwürfe fortgeblieben, hingegen ist nur von einer „Porentheorie" die Rede.

Filtration beobachtet wird. Gerade das aber ist es, worauf es ankommt, denn wir müssen natürlich auf das entsprechende Verhalten stoßen, wenn wir die Molekeln verschiedener Größe durch Poren von gleichem oder für das Filter durchschnittlich gleichem Radius passieren lassen. Bei immer kleineren Abmessungen der Poren werden dann (BOGEN 1950) die VAN DER WAALSschen Kräfte zwischen den durchtretenden Molekeln und zwischen diesen und den Porenwänden für die Filtrationsgeschwindigkeit immer bedeutsamer, um bei kleinsten Poren, wie sie für die meisten Pflanzen- und viele Tierzellen charakteristisch sind, den schroffen Gegensatz zwischen vorwiegend hydrophobe Gruppen enthaltenden Molekeln und daher mit wachsender Zahl dieser Gruppen (und insofern oft mit größer werdendem Molekül) immer rascher permeierenden („lipoidlöslichen") Stoffen einerseits und den mit Zunahme hydrophiler Gruppen immer schwerer penetrierenden („lipoidunlöslichen") andererseits zu ergeben.

Ein Verhalten nach der UFT. hat sich ja auch für Modellultrafilter mit Ferrocyankupfermembranen (COLLANDER 1924) und mit Collodiumhäuten von variablem Porenquerschnitt oder mit Gelen, die schwellen und schrumpfen können (MICHAELIS 1926, 1933), ergeben. Auf solche Erfahrungen kann sich also unsere Bezeichnung stützen, und es besagt gegen sie nichts, wenn wir beim Filtrieren ungelöster Partikel im alltäglichen Sinne nur an das schließliche Zurückhalten der Teilchen denken, die größer sind als die Poren, d. h. also an reine „*Siebwirkungen*". Deshalb können übrigens auch auf die UFT. bezogene Bemerkungen wie von SCHÖNFELDER (1930, S. 485) über „reine Siebwirkungen" mißverständlich wirken.

Diejenigen Stoffe, deren Permeation mit der UFT. unvereinbar schien, sind die sog. lipoidlöslichen, d. h. ± hydrophoben, unpolaren oder polar-apolaren, z. gr. T. oberflächenaktiven Anelektrolyte. Hier hatte man frühzeitig nach besonderen Beziehungen zwischen penetrierenden Stoffen und plasmatischer Grenzschicht in Anlehnung an OVERTON (1899 usw.) gesucht, welcher gezeigt hatte, daß — in heutiger Terminologie — der Eintritt polarer Gruppen ins Molekül das Penetrationsvermögen herab-, derjenige apolarer dagegen heraufsetzt, und zwar dies häufig so stark, daß die gesamte Permeabilitätsfrage unter den Aspekt mangelnder oder leichter Löslichkeit in Fetten, Lipoiden, Äther usw. trat, mit der die Aufnahme symbat zu folgen schien, wenigstens annähernd, denn ein durchweg befriedigender Zusammenhang dieser Art ist trotz Heranziehung zahlreicher, chemisch verschiedener hydrophober Lösungsmittel und großer darauf verwandter Mühe bisher nicht gefunden worden.

Gleichwohl hat die OVERTON-MEYERsche Lipoidtheorie, welche eine Lösung der permeierenden Stoffe in den Lipoiden der Plasmahaut

fordert und für die hydrophilen Stoffe andere, nicht näher bekannte Wege annehmen muß, viel Bestechendes gehabt und scheint zum Teil bis heute, so in der Pharmakologie, wenig von ihrer Beliebtheit eingebüßt zu haben. Eine vermittelnde Stellung zwischen dieser Lipoidtheorie und der UFT. haben COLLANDER und BÄRLUND (1933) vorgeschlagen.

Daß indessen bei der Permeation eine vorübergehende „Lösung" der ± hydrophoben Stoffe in den Plasmahautlipoiden gemäß dem NERNSTschen Prinzip der auswählenden Löslichkeit nicht stattfindet, dürfte unter anderem auch aus den nachstehend mitgeteilten Versuchen plausibel werden.

Der eine von uns hatte nun seine UFT. mit dem Anspruch auf Allgemeingültigkeit aufgestellt, obwohl auch bei seinem Hauptobjekt *Bm* wie bei anderen pflanzlichen und tierischen Zellen die seiner Theorie anscheinend widersprechende bevorzugte Aufnahme lipoidlöslicher Stoffe und gerade solcher von erheblicher Molekelgröße, hervortrat. Es lag ja auf der Hand, daß sich beide Stoffkategorien, hydrophile und hydrophobe, nicht nur durch ihre Löslichkeit unterscheiden, und so blieb anfänglich noch weiterer Untersuchung und Entscheidung vorbehalten, welche physikochemischen Wechselwirkungen der Stoffe letzterer Art mit der Porensubstanz den Import beschleunigen[1], zumal die „Lösung" der permeierenden Lipophilen in ihr ja nichts als ein Weiterdiffundieren ihrer Molekeln zwischen die einer anderen (lipoiden) Substanz hinein und durch diese hindurch besagte.

Bald aber hat SCHÖNFELDER (1930) ausführlich zu zeigen versucht, daß die erhöhte Penetrationsgeschwindigkeit der Hydrophoben auf etwas ganz anderem, nämlich gemäß WARBURGs Adsorptionstheorie auf Adsorption, also auf eine mit der Molekelgröße ansteigende physikalische Wechselwirkung mit der Grenzphasensubstanz zurückführbar sei, und daß demgemäß nichts hindere, auch diesen Stoffen den Porenweg zuzuschreiben.

Neuerdings hat (vgl. auch S. 92) BOGEN (1950), wie schon angedeutet, das unterschiedliche Verhalten der Hydrophilen und Hydrophoben beim Penetrationsvorgang noch allgemeiner erläutert. Bei kleinen Abmessungen der Poren machen sich Sekundäreffekte durch VAN DER WAALSsche Kräfte zwischen den durchtretenden Molekeln sowie auch zwischen diesen und denen der Porenwände bedeutsam genug geltend, um mit der Zunahme der Zahl apolarer Gruppen und damit eventuell steigender

[1] Dieser Standpunkt kam zum Ausdruck in den seither öfter zitierten Sätzen (RUHLAND und HOFFMANN 1926): „Und doch schiene uns wissenschaftlich auch dann etwas gewonnen, wenn die Theorie ... nur den großen Grundrahmen abgeben würde, innerhalb dessen noch sehr weiter Raum wäre für das Spiel ... mancher physikalischer und chemischer Besonderheiten des Plasmas sowohl wie der Stoffe" (a. a. O. S. 80).

Molekelgröße die bevorzugte Aufnahmegeschwindigkeit der Hydrophoben zu erklären[1]. Also wieder der Porenweg und die beherrschende Rolle rein räumlicher Verhältnisse. Natürlich erklärt sich durch die geringe Reichweite dieser intermolekularen Kräfte auch, daß der Kontrast des Durchtrittes der beiden Stoffarten bei den gewöhnlichen, außerordentlich engen pflanzlichen Poren viel schroffer zu Tage treten muß als bei *Bm.*

Es muß nun aber, insbesondere angesichts der endlosen Polemik um die Lipoid-, Lipoidfilter- und die UFT. der Wunsch verbleiben, die Streitpunkte auch *experimentell* möglichst eindeutig zu klären, was vor allem für das Verhalten der ± hydrophoben Anelektrolyte gilt, das ja gerade zu so widerspruchsvollen theoretischen Erklärungen Anlaß gegeben hatte. Es möchte also gezeigt werden: 1. daß bei diesen Stoffen die Molekelgröße im Verhältnis zur Porenweite beim Permeationsvorgang ebenso maßgeblich beteiligt ist wie bei den ± hydrophilen und 2. daß jene auf dem gleichen Porenwege ins Zellinnere gelangen wie diese.

Beide sich aus der UFT. ergebende Thesen werden unseres Erachtens durch die nachfolgend beschriebenen Versuche an *Bm*-Zellen dargetan, die unter der narkotischen Einwirkung der primären Alkohole C_1—C_9 der gesättigten aliphatischen Reihe standen, wobei die Molekellänge dieser Alkohole den Eintritt beider Stoffkategorien gleichsinnig beeinflußte.

b) Das Objekt.

Die von uns benützten Beggiatoen stammten von der gleichen Stelle des Solgrabens von Artern, die auch das Material für die früheren Arbeiten (RUHLAND und HOFFMANN 1926, SCHÖNFELDER 1930, RUHLAND, ULLRICH und YAMAHA 1933) geliefert hatte. Einige an sich nicht wesentliche Unstimmigkeiten der früheren Ergebnisse gegenüber unseren weiter unten (Tabelle 3) mitzuteilenden Messungen machen es rätlich, hier zunächst auf die Artfrage einzugehen:

KLAS (1937) fand 2 Gruppen von *Bm* mit verschiedener Fadenweite ohne Übergänge zu einander. Er unterschied deshalb 2 besondere Arten: a) *B. mirabilis* (COHN) KLAS mit 14,8—24,4 μ dicken und b) *B. gigantea* KLAS mit 26,4—42,6 μ dicken Fäden. RUHLAND und HOFFMANN (1926) geben für ihre Fäden als Breite sogar 40—50 μ an, SCHÖNFELDER (1930) gibt keine Maße, KESSLER (unveröffentlicht) fand am gleichen Standort eine Breite von nur 19—29,3 μ. Zu Beginn unserer Untersuchungen wurden Messungen leider versäumt, 1941 fanden wir 18,0—27,5 μ

[1] Ein schönes Beispiel dafür ist unter anderem das raschere Permeieren von Methylharnstoff im Vergleich zu Harnstoff, der wiederum von Dimethyl- und Äthylharnstoff übertroffen wird (COLLANDER und WIKSTRÖM 1949). Wenn dies bei *Bm* umgekehrt ist, so folgt dies aus der viel größeren Porenweite dieses Organismus (S. 99, Tabelle 2). Bei manchen Objekten dringt Harnstoff rascher als Methylharnstoff (s. auch COLLANDER und WIKSTRÖM) in gewöhnliche Zellen höherer Pflanzen ein, Ausnahmen, welche durch die den Plasmazustand verändernde Wirkung dieser Stoffe bedingt sind.

(im Mittel etwa 24,5 μ, 1942 19,5—28,8 μ (im Mittel 25 μ). Nehmen wir nach KLAS das Verhältnis von Fadenbreite und Zellänge als charakteristisch, so betrug dies bei unserem Material 2:1, wie KLAS für *Bm* angibt. Bei den von RUHLAND und HOFFMANN untersuchten Zellen betrug dies Verhältnis ~ 2,5:1, paßt also trotz der riesenhaften Zellen nicht zu *B. gigantea*, das KLAS mit 4:1 angibt ULLRICH (1926) bildet Fäden vom gleichen Standort mit dem Verhältnis von 1,8:1 ab. Unser Material würde also noch am besten zu *Bm* (COHN) KLAS stimmen, doch beobachteten wir, wenn auch selten, in unserem Material riesenhafte Fäden mit doppeltem Quermesser, berücksichtigten sie bei unseren Permeabilitätsmessungen aber nicht. Alle anderen Individuen stimmen von 1937—1943 in ihren physiologischen Reaktionen völlig überein.

In Tabelle 3 stoßen wir aber auf die oben angedeuteten Unstimmigkeiten zwischen unserer vorliegenden und den genannten früheren Messungen, welche eventuell eine Arttrennung rechtfertigen könnten, so die S. 97 erwähnte Reaktion frei schwimmender Individuen auf vorbeifließendes Wasser, die von den früheren Autoren nicht erwähnt wird, jedoch in KESSLERS kleinzelligem Material ebenfalls auftrat. Ferner mag die durchschnittliche Weite oder Zahl der Poren bei den früher verwendeten Beggiatoen größer gewesen sein: Nach RUHLAND und HOFFMANN (1926) verschwinden nämlich die durch 0,33 Mol Saccharose und 0,8 Mol Glukose hervorgerufenen Turgorschrumpfungen in 5 min wieder. Während hier also die Stoffe bereits bis zum Konzentrationsausgleich eingedrungen waren, erhielten sich die durch kleinere Konzentrationen erhaltenen Knickungen an unseren Beggiatoen etwas länger (Tabelle 2). Dagegen stimmten die osmotischen Werte und die Porenverhältnisse mit den früher gefundenen überein, denn die Permeationskoeffizienten waren wesentlich die gleichen (vgl. im übrigen S. 100 und Tabelle 3).

Wir begründen jetzt die Wahl unseres Versuchsobjektes *Bm* mit dessen großen — vielleicht einzigartigen — allgemeinen Vorzügen im Hinblick auf unsere Zwecke. Erst später werden wir dann sehen, welche speziellen Vorteile *Bm* mit ihren weiten Poren auch für das Arbeiten mit Alkoholen verschiedener Kettenlänge bietet. Hier seien also zunächst die allgemeinen Vorzüge kurz angedeutet, namentlich auch für diejenigen Kritiker, welche geneigt sind, diesem Material exceptionelle qualitative, und nicht, wie es der Fall ist, nur quantitative, eben durch die Porenweite und einige andere Eigenschaften bedingte Besonderheiten gegenüber den meisten übrigen Pflanzenzellen zuzuschreiben.

1. *Bm* hat gegenüber ihrem natürlichen Medium (in unserem Falle Wasser des Solgrabens von Artern bei Halle) den enorm niedrigen osmotischen Überwert von $3{,}36 \cdot 10^{-3}$ Atm. und gestattet dadurch die Messung der Durchlässigkeit noch für Stoffe, die für gewöhnliche Objekte nicht verwendbar wären, entweder wegen geringer Wasserlöslichkeit oder weil sie in den erforderlichen, unvergleichlich viel größeren Konzentrationen bereits schädlich wirken bzw. höchstens noch die umständliche Partialdruckmethode erlauben. Mit der Zahl der am gleichen Objekt verwendbaren Stoffe muß aber die Sicherheit wachsen, mit welcher die Gesetzmäßigkeiten der Penetration hervortreten.

2. Die schon oben erwähnten Porenverhältnisse (Zahl, Weite) gestatten ganz kurze, nur etwa 1 min betragende Meßzeiten, während

man bei den viel länger dauernden plasmolytischen Messungen an anderen Objekten oft mit irreführenden Ana- und Katatonosen usw. zu rechnen hat.

3. Die Versuche gehen nicht nur rasch, sondern im natürlichen Medium vor sich, d. h. untergetaucht, aber doch nicht so, daß Sauerstoffmangel in Frage kommt, mit dem bei der üblichen langwierigen Plasmolysenmethode, bei Geweben von Landpflanzen im Raume zwischen Objektträger und Deckglas (Umstellung auf teilweise oder komplette anaerobe Atmung) immer gerechnet werden muß. Auch könnte, wie MOTHES (1933) zeigte, durch die unvermeidliche Gewebeinfiltration bereits Proteolyse einsetzen.

4. Zur Anwendung gelangt eine schonende Turgormethode, weil bei *Bm* Plasma und Zellmembran so fest zusammenhängen (RUHLAND und HEILMANN 1926), daß sie sich bei osmotischem Wasserentzug nicht voneinander lösen. (Die Durchlässigkeit der Zellmembran kann dabei an toten Fäden kontrolliert werden.) Im Gegensatz dazu kann die übliche Plasmolyse schwere Verletzungen gerade der plasmatischen Außenbezirke mit sich bringen. RUHLAND, ULLRICH und ENDO (1938) zeigten, daß die nach Verletzung statt der „alten" gebildete „neue" Plasmahaut sich in ihrer Durchlässigkeit von jener nachweisbar unterscheidet, was bisher kaum beachtet worden ist, obwohl schon früher SCARTH (1927) ähnliche Veränderungen festgestellt hatte (vgl. auch RUHLAND und RAMSHORN 1938). Auch an Verwundungen durch abgerissene Plasmodesmen wird vielleicht zu denken sein. Die schädliche Wirkung von Plasmo- und Deplasmolyse ist besonders bei Untersuchung der „Permeabilität" für Wasser sehr zu beachten (DE HAAN 1933).

c) Apparatur.

Für unsere Messungen haben wir uns wiederum der früher im Leipziger Botanischen Institut ausgebildeten Methode bedient. Die in der Arbeit von RUHLAND, ULLRICH und YAMAHA (1933) genauer beschriebenen Strömungskammern wurden Glas an Glas über ein kurzes Kapillarrohr mit einem Dreiwegehahn verbunden, an dessen beiden Zuflüssen mit Gummischlauch, ebenfalls ganz eng, 2 Tropftrichten so befestigt waren, daß sich die Kammern nacheinander mit 2 verschiedenen Lösungen ohne Zeitverlust durchströmen ließen. Mit Rücksicht auf die Verwendung fettlöslicher Stoffe blieben die gut eingeschliffenen Hähne der Apparatur ungefettet, hielten aber gleichwohl dicht. Die Tropftrichter wurden mit eingeschliffenen Glasstopfen verschlossen und nur während der Arbeit selbst lose mit Schalen bedeckt, so daß nirgends durch Verdampfen Konzentrationsänderungen zu beürchten waren.

B. Experimenteller Teil.

a) Messungen im Normalzustand des Objekts.

Zur Messung der Permeabilität wurden die mit Arterner Solwasser gefüllten Kammern nach etwa 1 Std, wenn sich die Zellfäden in großer

Zahl durch Schleimabsonderung am Boden festgesetzt haben, mit der Lösung des jeweiligen Stoffes in Solwasser durchströmt. Bald darauf kann man dann den Prozentsatz osmotisch „geknickter", d. h. durch Turgorverlust erschlaffter Fäden auszählen.

Bei schwächerem Wasserstrom, wie ihn RUHLAND und HOFFMANN (1926) und auch SCHÖNFELDER (1930) anwandten, verblieben bei unserem Material auch nicht festsitzende Fäden in den Kammern und knickten dabei stets ein, weshalb in Grenzfällen die Unterscheidung osmotisch und mechanisch geknickter Fäden schwierig wurde, d. h. also eine stärkere Wirkung der vorbeifließenden Lösung vorgetäuscht werden konnte. Außerdem wickelten sich jetzt — ehemals bestand diese Schwierigkeit offenbar nicht — solche losen Fäden umeinander, bildeten verklumpte Flocken und verdeckten dabei auch die darunter liegenden festhaftenden Individuen. Auch deshalb mußten die frei schwimmenden Fäden aus den Kammern entfernt werden, was nur durch stärkeren Wasserstrom (etwa 120 Tropfen je Minute) möglich war. Die an den nun noch in den Kammern verbliebenen Fäden beobachteten Einkerbungen rührten, wie sich immer wieder bestätigte, nur von Turgeszenzverlust her. Dadurch ergab sich aber der Vorteil, nicht nur aus dem Gesichtsfelde, sondern aus der ganzen Kammer mit ihren bis 40 Individuen die osmotischen Wirkungen zu ermitteln, wobei eine Messung mindestens 2, meist aber 5 Kammern umfaßte, so daß ein guter Mittelwert gewonnen wurde, wie auch die schönen Übereinstimmungen bei den häufigen, zu verschiedenen Zeiten durchgeführten Wiederholungen zeigten. Alle Untersuchungen wurden bei ~15° C (größte Schwankung zwischen 13° und 17°), gegen 20° der früheren Versuche in einem hellen Zimmer ausgeführt. Dies gilt alles auch für die Narkoseversuche.

An Stelle der „Momentanversuche" in den früheren Arbeiten traten Messungen unter Einhaltung einer längeren, gleichen Einwirkungszeit der Lösungen von 3 min. Die Wahl dieser für *Bm* recht langen Dauer, zu welcher noch die für das Auszählen der Kammern erforderlichen Zeit kam, wurde mit Rücksicht auf die Narkoseversuche gewählt, mit deren Ergebnissen die Versuche im Normalzustand („Normalversuche") vergleichbar zu gestalten waren.

b) Messungen im Zustand der Narkose.

Bei der Bemessung der Zeit, in welcher die Fäden von *Bm* der Einwirkung unserer Narkotika zu überlassen waren, mußte ebensosehr auf eine kräftige Wirkung Bedacht genommen wie jede auch geringfügigste Schädigung ausgeschlossen werden. Eine solche bestand möglicherweise im Verlust der Fäden, sich durch Schleimabsonderung am Boden festzusetzen, wie es nach 40 min der Narkose mit allen Alkoholen festgestellt wurde: Fast alle Individuen wurden mit den einströmenden Lösungen davongeschwemmt.

Wir haben, um völlig sicher zu gehen, die Gesamtdauer der Narkose mit allen Alkoholen auf 8 min beschränkt. Die Untersuchungskammern wurden zunächst mit einer Lösung des jeweiligen Anästhetikums in Solwasser durchspült, 5 min beiseite gelegt („Vornarkose")

und dann die Behandlung mit einer Lösung fortgesetzt, die neben dem Narkotikum noch den jeweils interessierenden Stoff in Grenzkonzentration enthielt. 3 min nach Beginn dieser letzteren Behandlung wurden alle Fäden auf die osmotische Wirkung geprüft und ausgezählt, so daß die Zahlen darüber Aufschluß gaben, ob oder wie das Narkotikum die Durchlässigkeit verändert hatte.

Die Wahl von 3 min für die Prüfung auf osmotischen Wasserentzug bei den Narkoseversuchen machte natürlich notwendig, die Grenzkonzentrationen durch Normalversuche, die in extenso aus früheren Versuchen ja nur auf Grund von Momentanversuchen bekannt waren, genau zu bestimmen: Tabelle 1 zeigt an einigen nach steigendem Verteilungsquotienten Äther/Wasser als ungefährem Maß der Hydrophobie geordneten Stoffbeispielen den Prozentsatz osmotisch erschlaffter *Bm*-Fäden nach verschiedener Einwirkungsdauer. Die Zahl der Versuche war nicht so groß wie sonst. Man sieht aber, daß die Hydrophoben (und entsprechend die in der Tabelle nicht berücksichtigten kleinmolekularen Hydrophilen) schon nach 3—4 min, d. h. also *während des Auszählens*, merklich und meßbar aufgenommen werden. Zur Ergänzung diene Tabelle 2 mit den in Momentanversuchen (30—60 sec Einwirkung) und 5-min-Versuchen erhaltenen Grenzkonzentrationen. Die Zahlen der Tabelle 2 sind bereits von RUHLAND und HOFFMANN (1926, S. 43) mitgeteilt worden und sollten damals begründen, daß wir unsere Permeationskoeffizienten aus Momentanversuchen berechneten. Für unsere nachstehend mitzuteilenden Hauptversuche ergab sich die Zugrundelegung von 3 min für alle Turgeszenzversuche als sehr glücklich gewählt, wie aus späterem Zusammenhange (S. 105) hervorgehen wird.

Anhangsweise sei bemerkt, daß wir diese 3-min-Versuche ohne Narkotikum auch an allen verwendeten Stoffen und Konzentrationen für eine strenge Prüfung auf Unschädlichkeit benutzt haben, nachdem von vornherein alle Stoffe ausgeschieden waren, welche sich bereits in früheren Momentanversuchen als fragwürdig erwiesen hatten und deshalb damals nach der Partialdruckmethode zusammen mit einem nicht permeierenden Stoff geboten werden mußten. Die übrigen zu prüfenden Stoffe wirkten 3 min ein, dann wurde 5 min lang kräftig mit reinem Solwasser durchströmt. Als verwendbar wurde der Stoff nur dann angesehen, wenn die durch ihn osmotisch geknickten Fäden sich sämtlich in Solwasser wieder gerade gestreckt und bei einer nachfolgenden Behandlung mit Rohr- oder Traubenzucker in Grenzkonzentration auch wieder die alte, normale Durchlässigkeit aufwies, während erhöhte als noch nicht überwundene Schädigung betrachtet und der betreffende Stoff verworfen wurde.

Tabelle 1. *Prozentsatz osmotisch geknickter Bm-Fäden in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer der Grenzkonzentrationen (vgl. Text). Stoffe geordnet nach K Äther/Wasser.*

Stoff	K Äther/Wasser	MR_D	Grenzkonzentration Mol · 10^{-3}	Minuten nach Beginn der Einwirkung							
				1	2	3	4	5	6	7	8
Raffinose	< 0,001	103,58	0,15	47	49	52	50	53	51	49	49
Saccharose . . .	< 0,001	70,35	0,25	47	50	55	52	45	30	9	2
Glukose	< 0,001	37,54	0,59	46	56	56	54	40	18	7	1
Butyramid . . .	0,058	24,11	14,0	45	48	48	44	35	13	5	0
Diäthylharnstoff .	0,019	32,66	4,2	48	51	47	32	14	1	0	0
Triäthylazetat . .	4,4	64,73	1,2	49	49	51	30	11	0	0	0

Tabelle 2. *Grenzkonzentrationen nach verschiedener Einwirkungsdauer. Stoffe geordnet nach der Molrefraktion. Lipoidlösliche Stoffe kursiv.*

Stoff	MR_D	K Äther/Wasser	Grenzkonzentration Mol · 10^{-3}		Durchschnittlicher Anstieg der Innenkonzentration Mol · 10^{-3} je min
			momentan	5 min	
Raffinose	103,58	$<0{,}001$	0,15	0,15	0,00
Saccharose	70,35	$<0{,}001$	0,25	0,33	0,0066
Rhamnose	36,02	$<0{,}001$	0,50	0,67	0,134
Dulzit	39,06	—	0,55	0,75	0,15
Glukose	37,54	$<0{,}001$	0,55	0,8	0,16
Xylose	31,40	$<0{,}001$	0,80	1,5	0,3
Erythrit	26,77	$<0{,}001$	3	20	4
Monochlorhydrin .	23,97	0,080	20	80	16
Glyzerin	20,63	$<0{,}001$	9	70	14
Dimethylharnstoff .	23,43	0,003	5	20	4
Methylharnstoff[1]. .	18,47	0,0012	10	140	28
Glykol	14,40	—	90	300	100

[1] Man beachte, daß die Permeabilität für Mono- und Dimethylharnstoff bei *Bm* durch die Molekelgröße entschieden wird, bei zahlreichen anderen Pflanzenzellen dagegen durch das Dazukommen apolarer Gruppen im Molekül, was sich bei den viel engeren Poren leicht erklärt (S. 109f.).

c) Auswahl der permeierenden Stoffe.

Wir haben wieder nur Anelektrolyte herangezogen, hydrophile und in verschiedenem Grade hydrophobe. Als Maß der Hydrophobie wurde wieder der Verteilungsquotient K Äther/Wasser (Schönfelder 1930, Collander 1942) gewählt, als Maß der Molekelgröße diente die Molrefraktion MR_D. Deren unterste Größe war durch Glyzerin vertreten. Noch kleinere Molekeln werden in der relativ langen Versuchszeit von 3 min schon zu weitgehend von *Bm* aufgenommen, um noch brauchbare Werte zu ergeben. Es schien unnötig, für gleiche oder ähnliche Molekelgrößen mit mehreren Repräsentanten zu arbeiten, da sie sich im Permeiervermögen nicht oder zu wenig unterschieden. So stehen Malonamid und Laktamid (Schönfelder 1930) im MV und in der Permeation dem Glyzerin so nahe, daß sie fortfallen konnten. Für die Disaccharide konnten wir uns mit Saccharose, für Hexosen mit Glukose, für die Pentosen mit Xylose begnügen. Sodann mußte eine Reihe von Stoffen wegfallen, deren Untersuchung an sich erwünscht gewesen wäre und früher von uns (Ruhland und Hoffmann 1926) und Schönfelder (1930) verwendet worden waren, jedoch während der Kriegszeit nicht mehr beschafft werden konnten. Neu hinzu kamen Äskulin (wegen der photodynamischen Wirkung im Dunkeln geboten) und Arbutin. Unter den lipoidlöslichen waren die großmolekularen interessant, da ja für ihre Aufnahme immer wieder nachdrücklich das Löslichkeitsprinzip in Anspruch genommen war. Andere wie Anilin, Paraldehyd, Pinakon-

hydrat, Äthylazetat, Monazetin und Formanilid hielten unserer Unschädlichkeitsprüfung nicht Stand.

Wesentlich war für unsere Zwecke, daß unter den Stoffen *Paare* aus einem hydrophilen und einem ± hydrophoben Partner von ähnlicher Molekelgröße vertreten waren (vgl. etwa Propylurethan und Butyramid, i-Valeramid und Succinamid, Saligenin und Glukose, Triäthylzitrat und Arbutin).

Zu diesen Stoffen kamen für die Normalversuche noch einige (Äther, i-Butylalkohol, n-Propyl-, Äthyl- und Methylalkohol), die nur unter unseren Narkotizis figurierten und deren Permeiergeschwindigkeit uns nur in diesem Zusammenhange interessierte.

d) Normale Durchlässigkeit.

Als Maß der Durchlässigkeit diente wieder die Permeabilitätskonstante $\mu = 1 - c/c'$, wo c' die gefundene Grenzkonzentration, c die von Raffinose als nicht permeierendem Stoff bedeutet (LEPESCHKIN 1909, TRÖNDLE 1910). Daß der Ausdruck nur ein annäherndes Maß für die Geschwindigkeit des Durchtrittes durch die Plasmagrenzschicht darstellt, ist uns bewußt. Es sollte in ihn auch noch die Diffusion durch das Außenmedium bis zur Grenzfläche eingehen, doch kann der dadurch bedingte Fehler bei *Bm* wegen des ungewöhnlich niedrigen Grenzwertes nicht erheblich sein. Wir haben auch im kräftigen Dauerstrom der Lösungen gemessen, unter anderem auch solcher von langsamer diffundierenden Stoffen mit größerem MV, wie der Saccharose, ohne nennenswerte Abweichungen (für Saccharose gelegentlich $\mu = 39{,}7$ oder $39{,}9$ statt $40{,}0 \times 10^{-2}$) von Messungen in nicht strömender Lösung) zu erhalten. Bei gewöhnlichen pflanzlichen Objekten mit hohen Grenzkonzentrationen kann sich der Fehler allerdings beträchtlich erhöhen. Zu den Einwänden von DAVSON und DANIELLI (1943) sei auf die Mitteilung COLLANDERS (1949a) verwiesen. Wegen weiterer Kritik der Methode findet sich eine Stellungnahme in der Arbeit von RUHLAND und HOFFMANN (1926, S. 42).

Wir geben nun in Tabelle 3 eine Übersicht über die Ergebnisse der von uns in 3-min-Versuchen im Normalzustand des Objekts gemessenen Grenzkonzentrationen und der aus ihnen berechneten Permeationskoeffizienten. In der Tabelle sind die ± ätherlöslichen kursiv gedruckt, diejenigen mit einem Teilungskoeffizienten $< 0{,}001$ wurden als hydrophil angesehen. Man erkennt die stark bevorzugte Permeation der hydrophoben, wenn man sie mit hydrophilen ähnlicher Molekelgröße vergleicht, also etwa Propylurethan mit Erythrit, Xylose mit Diäthylharnstoff, Triäthylzitrat mit Arbutin oder Salizin, wenngleich die Bevorzugung keineswegs an diejenige heranreicht, welche bei Zellen mit engporiger Plasmagrenzschicht beobachtet wird (S. 110).

Selbstverständlich sind die aus unseren neuen 3-min-Versuchen gewonnenen Zahlen höher als die „Momentan"werte, da in 3—4 min schon ein osmotischer Ausgleich begonnen hat (vgl. S. 106). Wie die Ausnahmen von der guten Übereinstimmung der Messungen (Triäthylzitrat, Salizin) zustande kamen, haben wir nicht untersucht, da unsere neuen Werte allein als Grundlage für die Beurteilung der Narkose-

Tabelle 3. *Übersicht über die Permeabilität von Bm nach verschiedenen Autoren und bei verschiedenen Einwirkungszeiten der permeierenden Stoffe. In Spalte 3 bedeutet: C nach* COLLANDER *(1949b), CB nach* COLLANDER *und* BÄRLUND *(1933), B nach* BÄRLUND *(1929). In den Spalten 3—11 bedeutet: RHe eigene Messungen, Sch solche von* SCHÖNFELDER *(1930), RHo von* RUHLAND *und* HOFFMANN *(1926). Stoffe geordnet nach der Molrefraktion*[1].

Stoff	MR_D	K Äther/Wasser	Grenzkonzentration in Mol $\cdot 10^{-3}$				Permeabilitätskonstante in $\mu \cdot 10^{-3}$			
			3 min RHe	Momentanversuche			3 min RHe	Momentanversuche		
				RHe	Sch	RHo		RHe	Sch	RHo
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Methylalkohol	8,04	0,14 C	—	836	1000	—	—	99,98	—	—
Äthylalkohol	12,78	0,26 C	—	223	1000	—	—	99,93	100	—
n-Propylalkohol	17,52	1,9 C	—	134	200	—	—	99,89	99,2	—
Glyzerin	20,63	<0,001 CB	10	—	9	9	98,5	—	98,3	98,3
Äthylurethan	21,13	0,64 B	—	40	15	—	99,6	99,6	99,0	—
i-Butylalkohol	22,19	6,9 C	—	34,2	30,0	—	—	99,5	99,95	—
n-Butyramid	24,91	0,058 B	14	—	12,5	—	98,9	—	98,8	—
Propylurethan	25,75	0,72 RHe	—	20	4,5	—	—	99,2	96,7	—
Erythrit	26,77	<0,001 CB	1,3	—	1	3	88,5	—	85,0	95,0
Succinamid	27,54	<0,001 RHe	2	—	1,5	—	92,5	—	90,0	—
i-Valeramid	28,72	0,17 B	13	—	9	—	98,8	—	98,3	—
Xylose	31,40	<0,001 RHe	0,85	—	0,8	—	82,0	—	81,0	—
Diäthylharnstoff	32,66	0,019 CB	4,2	—	3	—	96,4	—	95,0	—
Saligenin	35,89	1,00 RHe	25	—	23	—	99,4	—	99,3	—
Glukose	37,54	<0,001 RHe	0,59	—	0,55	0,55	74,6	—	73,0	73,0
Galaktose	37,54	<0,001 RHe	0,6	—	0,5	—	75,0	—	70,0	—
Trimethylzitrat	50,25	0,43 B	0,5	—	0,5	—	70,0	—	70,0	—
Antipyrin	56,10	0,073 B	3,3	—	2,5	2,5	95,5	—	94,0	94,0
Arbutin	63,52	<0,001 CB	0,4	—	—	—	62,5	—	—	—
Triäthylzitrat	64,73	0,42 B	1,2	—	4	—	87,5	—	96,3	—
Salizin	67,34	<0,001 C	0,28	—	0,35	0,35	46,4	—	57,0	57,0
Saccharose	70,35	<0,001 C	0,25	—	0,20	0,25	40,0	—	25,0	40,0
Äskulin	76,30	<0,001 RHe	0,25	—	—	—	40,0	—	—	—
Raffinose	103,72	<0,001 RHe	0,15	—	0,15	0,15	0,0	0,0	0,0	0,0

[1] Die Werte für die auf die D-Linie des Natriums bezogenen Molrefraktionen stammen aus den Tabellen von SCHÖNFELDER (1930). Für die hinzukommenden Stoffe Arbutin und Äskulin wurden sie aus den Atomrefraktionen, weil in der uns zugänglichen Literatur nicht vorgefunden, neu berechnet. Für die H_α-Strahlung fanden wir Arbutin = 62,14 und Äskulin = 84,94.

wirkung dienen sollten. Vielleicht machen sich hier Art- oder Rassenunterschiede (S. 95) geltend, vielleicht auch unsere etwas tiefere Versuchstemperatur oder beides zusammen. Unsere 3-min-Werte schließen sich, von Saccharose abgesehen, den Momentanwerten von SCHÖNFELDER näher als denen von RUHLAND und HOFFMANN an. Die kleinmolekularen Alkohole passieren so rasch, daß nur Momentanversuche möglich waren und auch diese nur größenordnungsmäßig zu bewertende Messungen gestatteten, die uns nur in Hinsicht auf die Narkoseversuche mit diesen Alkoholen interessierten.

e) Narkoseversuche.

1. Allgemeines. Nachdem in den Arbeiten über die Permeabilität der Pflanzenzellen bereits eine große Zahl physiologisch zulässiger und im Handel erhältlicher Anelektrolyte geprüft worden ist, konnte eine experimentelle Klärung unserer Grundfrage, ob für den Durchtritt hydrophiler und hydrophoben Stoffe verschiedene Wege und Vorgänge anzunehmen seien oder für beide ein gleicher, gemeinsamer, wohl nur noch mit neuen Mitteln erhofft werden, die sich uns in Narkoseversuchen darzubieten schienen.

Die Begriffe „*Narkotika*" (Anästhetika) und der durch sie herbeigeführte, als *Narkose* (Anästhesie) bezeichnete physiologische Zustand entstammen der Tierphysiologie. Nach WINTERSTEIN (1926) ist „die Narkose ein durch chemische Agentien hervorgerufener Zustand allgemeiner Verminderung des Reaktionsvermögens der lebenden Substanz, dessen Intensität innerhalb gewisser Grenzen sich in gleicher Weise verändert wie die Konzentration der ihn bedingenden Agentien". WINTERSTEIN glaubte, für anästhesierende Stoffe kein weiteres gemeinsames Kennzeichen angeben zu können. Sehr viele Autoren, so OVERTON (1901), HEILBRUNNER (1929) sowie K. H. MEYER und HEMMI (1935) betonen indessen, daß alle diese Stoffe eine starke Lipoidlöslichkeit auszeichnet; sie sind in wäßriger Lösung praktisch undissoziert, chemisch aber sehr verschiedenartig: aliphatische und aromatische Verbindungen, Alkohole, Äther, Phenole, gesättigte und ungesättigte Kohlenwasserstoffe usw. gehören dazu. Die bei Tier und Pflanze ± übereinstimmende wesentliche Wirkung zeigt 3 Stadien: zunächst reversible Erregung vieler Lebenserscheinungen, die mit wachsender Konzentration in reversible Hemmung, die eigentliche Narkose, übergeht und bei weiterem Steigen der Konzentration allmählich bis zur letalen Schädigung führt.

Durch Narkose können Taxien bei niederen Organismen (Bakterien, Algen usw., Protozoen) unterbunden werden. Doch hören manche Bewegungen nicht auf (vgl. unter anderen ROTHERT 1904, KISCH 1912 usw.). Dies gilt nun auch für die Kriechbewegungen unseres Versuchsobjekts *Bm*, wie auch nach ROTHERT für diejenigen der weit verbreiteten *Beggiatoa alba*.

Sehen wir uns nun nach allgemein gültigen, also auch die niederen Pflanzen und Tiere einschließenden, von den Anästheticis bewirkten *primären* Veränderungen der lebenden Substanz um, so bietet sich uns,

zugleich als einzige sicherer Art, die *reversibel verminderte Permeabilität* an. Sie ist am häufigsten untersucht und bestätigt worden und konnte auch von uns bestätigt werden.

Diese fast allgemein und sogar an TRAUBEschen „Zellen" und Kolloidmodellen (ANSELMINO 1928) beobachtete, die Durchlässigkeit herabdrückende Wirkung wenigstens der grenzflächenaktiven Anästhetika wird meist dadurch erklärt, daß sie durch Adsorption an Plasmahaut und Poren die Stoffaufnahme behindern oder vollständig blockieren (HÖBER 1947, S. 396). Einer der besten Autoren auf diesem Gebiet, H. WINTERSTEIN (vgl. auch GELLHORN 1931 u. a.) hat in einer, wie der von HÖBER, vor allem die Tierzelle behandelnden Darstellung bereits 1926 eine solche „Permeabilitätstheorie der Narkose" (s. auch S. 369 bis 405) in aller Ausführlichkeit entwickelt und gegen andere Theorien verteidigt. Er hat dabei den Zustand veränderter Grenzflächenbeschaffenheit sogar auch zur Erklärung der narkotischen Erregungsveränderungen herangezogen, wozu hier ebensowenig wie zum Verhalten der Elektrolyte gegen narkotisierte Gewebe und Zellen Stellung genommen zu werden braucht[1].

Obwohl es für unsere gegenwärtige Fragestellung und Beweisführung nicht erheblich ist, seien hier noch einige Bemerkungen zu der für einige Tier- und Pflanzenzellen angegebenen *Erhöhung* der Permeabilität durch Narkotika angefügt, so vereinzelt derartige gegensätzliche Angaben, verglichen mit der durch viele, verschiedenartige Beweise gesicherten, den Stoffdurchtritt *herabdrückenden* Wirkung der Narkose auch sind. Daß diese besonderen Fälle genauer untersucht zu werden verdienen, kann nicht bestritten werden. Da sie früher immer durch Überdosierung und Schädigung erklärt werden konnten, wird man diese Möglichkeit auch jetzt noch nicht ohne weiteres ausschließen wollen. Es gibt leichte Schädigungen, die zwar nicht sofort bemerkbar sind, aber bei längerer Beobachtung vielleicht zutage getreten wären. Andererseits könnten die Schäden auch nach einiger Zeit überwunden worden sein, ihre Bezeichnung als „reversibel" wäre also insofern physiologisch nicht eindeutig.

2. Die Narkotika. Als solche haben wir in vorliegender Arbeit ausgesprochen und stark polar-apolare Stoffe, und zwar die primären Alkohole der gesättigten aliphatischen Reihe von C_1—C_9 gewählt[2], deren höchste Glieder nur noch Spuren von Wasserlöslichkeit zeigen.

[1] Wir erwähnen nur, daß wir Durchlaßhemmung und Narkose keineswegs identifizieren, wie es wohl öfter versucht wurde (vgl. auch S. 117). Reversible Störungen der Permeation rufen nach unseren gelegentlichen Versuchen auch nichtpolare Kohlenwasserstoffe wie Hexan und Oktan oder so schwach polar-apolare und nichtoberflächenaktive, aber stark narkotisch wirkende, wie Chloroform, hervor, während es andererseits nach K. H. MEYER und HEMMI (1935) nicht wenige oberflächenaktive Stoffe gibt, die zwar Hämolyse, aber keine Narkose erzeugen.

[2] Unsere Alkoholpräparate waren reinste Handelspräparate. Einige Alkohole wurden im Chemischen Laboratorium der Universität Leipzig eigens für uns dargestellt, wofür wir auch hier verbindlichst danken.

Tabelle 4. *Die als Narkotika verwendeten Alkohole. Näheres im Text.*

	Alkohole	Strukturformel	Molekellänge Å	Zahl der C-Atome	Optimale narkotische Konzentration Mol · 10^{-3}
1	Methanol (Methylalkohol) . . .	CH_3OH	~2,3	1	19,7
2	Methylpropanol-1 (pr.iso-Butylalkohol, Gärungsbutylalkohol)	$CH_3 \cdot CH(CH_3) \cdot CH_2OH$	~3,6	4	7,6
3	Äthanol (Äthylalkohol)	$CH_3 \cdot CH_2OH$	~3,8	2	18,7
4	Propanol-1 (n-Propylalkohol) . .	$CH_3 \cdot (CH_2)_2OH$	~4,7	3	4,02
5	2-Methylbutanol-1 (iso-Amylalkohol, Gärungsamylalkohol)	$CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH(CH_3) \cdot CH_2OH$	~5,4	5	0,278
6	Butanol-1 (n-Butylalkohol) . .	$CH_3(CH_2)_3OH$	~5,7	4	7,6
7	Pentanol-1 (n-Amylalkohol) . .	$CH_3 \cdot (CH_2)_4OH$	~6,5	5	0,278
8	Hexanol-1 (n-Hexylalkohol) . .	$CH_3 \cdot (CH_2)_5OH$	~7,7	6	0,014
9	Heptanol-1 (n-Heptylalkohol) .	$CH_3 \cdot (CH_2)_6OH$	~8,8	7	0,007
10	Oktanol-1 (n-Oktylalkohol) . .	$CH_3 \cdot (CH_2)_7OH$	~10	8	0,00032
11	Nonanol-1 (n-Nonylalkohol) . .	$CH_3 \cdot (CH_2)_8OH$	~11,2	9	0,000057

Anders konstituierte Narkotika haben wir zwar ebenfalls auf ihre permeabilitätsvermindernde Wirkung an *Bm* untersucht, doch werden sie hier übergangen, weil für unsere gegenwärtige Fragestellung von geringer Bedeutung.

Tabelle 4 gibt eine nach der Molekellänge (nicht der Zahl der C-Glieder der Kette) geordnete Zusammenstellung unserer Alkohole, ihrer Strukturformel sowie der von uns so bezeichneten „optimalen narkotischen Konzentration".

Als Länge der Molekeln wurde in Tabelle 4 diejenige der Linearprojektion nach STUART (1936) vom äußersten H der Paraffinkette bis zum hydratisch gebundenen H (bzw. bei n-Butanol und aufwärts bis zum O) des Gegenpols berechnet. Es ist also bei den Längenangaben zu beachten, daß in sie die frei schwingenden polaren OH-Gruppen einbezogen sind.

Die narkotische Permeabilitätsveränderung mußte in unseren Versuchen natürlich reversibel gelenkt werden, und zwar durch entsprechende Wahl der Konzentrationen und der Einwirkungsdauer. Als „optimale narkotische Konzentration" galt uns diejenige des Narkotikums, bei welcher die Erniedrigung der Durchlässigkeit ihren größten Wert erreichte. Die bereits auf S. 97 begründete Einwirkungsdauer (Vornarkose = 5 min + Nachnarkose = 3 min) betrug 8 min, lag also außerordentlich weit unter der Schwelle für die irreversible Erhöhung der Durchlässigkeit. Daß diese Zeitwahl sich als eine sehr glückliche herausstellte, wurde bereits angedeutet. Sie war es auch insofern, als in die 8 min die zum Auszählen der Kammern erforderliche Zeit nicht eingerechnet wurde, so daß für manche Stoffe die osmotische

Einwirkungsspanne (3 von diesen 8 min) schon etwas überschritten war. Dies war für unsere Zwecke willkommen, denn wenn trotz des beginnenden osmotischen Ausgleichs sich die Hemmung geltend machte, so war dies eine Bestärkung ihrer Wirksamkeit.

3. Versuchsergebnisse. Gleich die ersten Versuche zeigten, daß auch bei *Bm* unsere alkoholischen Narkotika die Penetration hemmten. Diese Wirkung stellten wir in gleicher Weise fest, wie es zum Zwecke der Bestimmung der Permeabilitätskoeffizienten geschah, d. h. durch Auszählen der Strömungskammern auf Turgorverluste (S. 97). Die Differenz zwischen der Zahl der geknickten *Bm*-Fäden, die nach Behandlung mit jedem einzelnen Stoff allein (also im Normalzustand) und derjenigen, die mit der gleichen Lösung, aber unter Einfluß des Narkotikums festzustellen war, diente als Kriterium der veränderten Durchlässigkeit für den penetrierenden Stoff. War also das Wirkungsprozent der (ohne Narkotikum für den jeweiligen Stoff festgestellten) Grenzkonzentration unter 50 gesunken, so wurde auf eine erschwerte Penetration geschlossen, wobei das Streuungsmaß der aus den Zählungen errechneten Prozente nur 4 betrug. Durchgezählt wurden wenigstens 2, meist aber über 5 Strömungskammern mit zusammen mindestens 40 Zellfäden.

Zu Tabelle 5 sei noch folgendes bemerkt: Als mittlere Abweichung ergab sich bei unseren in Prozent aller gezählten und auf Turgeszenz oder Turgorverlust geprüften Individuen $\sigma = 4$. Bei der ersten Versuchsserie schien keine Hemmung der Penetration von Antipyrin durch Äthyl- und n-Propylalkohol, von Arbutin durch Methyl- und von Triäthylzitrat durch Äthylalkohol bewirkt zu werden. In späteren Serien mit 90—110 Versuchsindividuen und strenger Einbeziehung der Auszähldauer (etwa $^1/_2$—1 min bei schwacher Vergrößerung) in die oben angeführte Versuchszeit verschwanden diese scheinbaren Abweichungen. Der die Hemmung kennzeichnende Betrag, um welchen die Prozentzahl turgeszenter Fäden unter 50 sank, war 12—31, in Serie 1 sonst 9—26 und nur in 5 Kombinationen 5—8, welch letztere auch wie oben nachgeprüft wurden.

Die *absoluten* Beträge der narkotischen Durchlaßhemmungen hätten erhebliches Interesse verdient, doch reichte die zu ihrer Messung erforderliche Zeit und Kraft damals nicht entfernt aus, auch hätten dafür wohl andere Wege beschritten werden müssen. Für unsere gegenwärtigen Ziele kam es nur auf die Feststellung der Veränderungs*richtung* an.

Betrachtet man die in Tabelle 5 zusammengefaßten Ergebnisse, so erkennt man sogleich *den Zusammenhang der Penetrationshemmung mit der Länge der Alkoholmoleküle* einerseits *und der Molekelgröße der penetrierenden Stoffe* andererseits, in dem Sinne, daß *mit zunehmender Kettenlänge der Alkohole der hemmende Einfluß auf immer kleinere Molekeln der Stoffe übergreift* und, Hand in Hand damit, *die Alkohole mit kürzester Kette nur noch die größten Stoffmolekeln an der Penetration zu hemmen vermögen.* Dabei ist unseres Erachtens noch von größter Bedeutung, *daß diese Regel sich gleichermaßen auf hydrophile wie hydrophobe* (d. h. äther- oder „lipoid"lösliche) *Stoffe erstreckt.* Die auf die

Tabelle 5. *Wirkung der Alkoholnarkose auf die Penetration. Stoffe geordnet nach Molekelgröße, die hydrophoben kursiv. Alkohole nach Molekellänge (in Å). 0 bedeutet Durchlässigkeit unverändert (wie im Normalversuch, vgl. Tabelle 1, Spalte 4), + bedeutet Grenzwert gestiegen, also Durchtritt gehemmt (vgl. im übrigen den Text).*

Stoffe	MR_D	$\frac{K \text{ Äther}}{\text{Wasser}}$	Alkohole										
			Methanol	Methylpropanol-1	Äthanol	Propanol-1	2-Methylbutanol-1	Butanol-1	Pentanol-1	Hexanol-1	Heptanol-1	Oktanol-1	Nonanol-1
			Å										
			2,3	3,6	3,8	4,7	5,4	5,7	6,5	7,7	8,8	10,6	11,2
			C-Atome										
			1	4	2	3	5	4	5	6	7	8	9
Glyzerin . . .	20,63	<0,001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Butyramid . .	24,91	<0,058	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Erythrit. . . .	26,77	<0,001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
Succinamid . .	27,54	<0,001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
i-Valeramid . .	28,72	0,17	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Xylose	31,40	<0,001	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Diäthylharnstoff	32,66	0,019	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Saligenin . . .	33,89	1,00	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Glukose. . . .	37,54	<0,001	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Trimethylzitrat .	50,25	0,43	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
*Antipyrin** . .	56,10	0,073	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
*Arbutin** . . .	63,52	<0,001	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
Triäthylzitrat .	64,73	4,42	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
Salizin	67,34	<0,001	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose . .	70,35	<0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Äskulin	76,30	<0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

*) Vgl. Text S. 105.

Länge der Alkoholmolekeln bezogenen Hemmungsbereiche sind bei vergleichbarem MV bei beiden Stoffkategorien die gleichen.

Daß die Hemmungswirkung der Alkohole kräftig ist, zeigen besonders auch die Fälle kleiner Molekeln, die in den Normalversuchen schon meßbar eindringen konnten[1]. Wenn gleichwohl in den zugehörigen Narkoseversuchen sich Hemmung (Zahlen unter 50%) ergab, so bedeutet dies, daß der Aufnahmeeffekt des betreffenden Alkohols noch *mit* überwunden war. Auf solche Fälle bezieht sich unsere frühere Bemerkung (S. 104), daß die von uns der Turgeszenzprüfung zugemessene Zeit von 3 min (zuzüglich der Zeit für das Auszählen, etwa $^1/_2$ bis 1 min) sich als glücklich gewählt herausstellte, da eben in dieser Zeit kleinmolekulare Stoffe schon teilweise penetrieren konnten (vgl. auch Tabelle 1 und 2). Bemerkt sei noch, daß die Versuche mit den lipophilen

[1] Zu Beginn unserer Versuche waren wir geneigt, diese Ergebnisse fälschlich im Sinne einer narkotisch gesteigerten Durchlässigkeit zu deuten.

Stoffen besonders oft an verschiedenen Tagen mit gleichem Ergebnis wiederholt wurden.

Es braucht kaum betont zu werden, daß die durch Narkose verminderte Permeabilität nicht durch Summation der Partialdrucke von Narkotikum und Stoff vorgetäuscht sein kann. Eine solche Vermutung ist nicht nur wegen der geringen selbst bei *Bm* gar nicht spürbaren Konzentration aller und besonders der C_5—C_8-Alkohole, sondern auch deshalb auszuschließen, weil selbst die niedermolekularen Alkohole nach der 5-min-Vornarkose längst bis zum Konzentrationsausgleich eingedrungen sind (vgl. auch Tabelle 3).

Je geringer also die Molekelgröße des penetrierenden Stoffes ist, desto länger muß die Alkoholkette sein, um Hemmung zu erzeugen. Bei den von uns gewählten Versuchszeiten und übrigen Bedingungen zeigten die Alkohole mit einer Länge der Linearprojektion ihrer Molekeln unter etwa 4 Å die hemmende Wirkung nur auf Stoffe vom $MR_D > 70$. Andererseits läßt bei gleichen Versuchsbedingungen Nonylalkohol (etwa 11,2 Å) nur noch Stoffe mit einer $MR_D < 25$ ohne meßbare Hemmung penetrieren. Höhermolekulare Alkohole unserer Reihe konnten, da in Wasser praktisch unlöslich, nicht mehr berücksichtigt werden.

Daß die Hemmwirkung nicht durch die *Zahl* der C-Atome je Molekel, sondern durch die Molekel*länge* entschieden wird, zeigt ein Vergleich des Effekts von iso-Butylalkohol (Methylpropanol-1, Gärungsbutylalkohol) mit dem von n-Butylalkohol (Butanol-1): beide haben 4 C-Atome, doch jener eine verzweigte, dieser eine unverzweigte und etwas längere Kette. Dem entspricht in der Kurve ein verschiedener Hemmungsbereich.

Die dick ausgezogene Treppenkurve der Tabelle 5 zeigt ohne weiteres verständliche Stufen je nach den genannten Dimensionen der Alkohol- und Stoffmolekeln. Sie gilt, wie nochmals betont sei, nur für unsere Versuchszeiten und übrigen Versuchsbedingungen. Es liegt kein Grund vor, zu zweifeln, daß bei modifizierten Bedingungen sich eine etwas anders, aber sinngleich gestufte Treppenkurve ergeben würde. Das zeigte sich in der Tat bei einigen Proben, die durch Verlängerung oder Verkürzung um $^1/_2$ bis 1 min von der 3-min-Norm unserer Hauptversuche, die osmotische Ausgleichszeit betreffend, abwichen.

C. Erörterung der Ergebnisse.

Unsere Messungen der reversiblen Permeabilitätsveränderung von *Bm* durch Narkose mit den homologen Alkoholen C_1—C_9 hatte eine allgemeine Erniedrigung der Durchlässigkeit ergeben. Damit befinden wir uns in Übereinstimmung mit den meisten übrigen Autoren, denen Höber als erster vorangegangen ist. Wie erwähnt, wurde auf solche Erfahrungen sogar eine „Permeabilitätstheorie der Narkose" begründet (Höber 1919, H. Winterstein 1926 usw.). Als Ursache dieser Wirkung der Narkotika ist längst eine durch sie hervorgerufene Veränderung der

Beschaffenheit der Plasmagrenzfläche angegeben worden, ja, sie wurde sogar zum Teil auch noch zur Erklärung der durch die Narkose bewirkten Erregungsveränderungen herangezogen (s. auch WINTERSTEIN), die aber von anderen, so zuletzt auch noch von K. H. MEYER und HEMMI (1935 u. a. a. O.) auf die Ansammlung der Narkotika in den Lipoiden des Zellinneren zurückgeführt wird.

Die uns hier allein interessierende Hemmung der Penetration stellte man sich als Ergebnis einer „Verstopfung" der Poren durch die Anästhetika vor, oder, wie HÖBER (1947, S. 396) es völlig im Sinne der UFT. ausdrückt: „*diese bilden, soweit sie grenzflächenaktive Stoffe sind, eine Adsorptionsschicht und behindern so durch Verengerung der Öffnung die Passage durch die Kanäle je nach dem Molekularvolumen der eindringenden Substanzen oder blockieren sie sogar vollständig*".

Durch die Vorstellung einer ungeordneten GIBBSschen Adsorptionsschicht *wird aber die von uns gefundene enge Beziehung zwischen Kettenlänge der narkotisierenden Alkohole und Molekelgröße der zum Durchtritt gebotenen Stoffe* (Tabelle 5) *nicht erklärt.* Die gesetzmäßige Abstufung der Durchtrittshemmung wird dagegen viel eher zur Annahme *eines die „Poren" auskleidenden monomolekularen Filmes („Molekülbürste")* drängen. Darin bestärkt unter anderem auch die soeben (S. 107) besprochene differente Wirkung von iso- und n-Butylalkohol (Tabelle 5). Erst ein solcher Film würde die Kettenlänge der Alkohole zur vollen Geltung kommen lassen, wobei die Filmbildung sich ohne weiteres aus der polar-apolaren Struktur der Alkohole ergibt.

Wenn wir diese Annahme im folgenden näher prüfen, so bleiben wir uns bewußt, daß mit der Kettenlänge der Alkohole auch noch andere physikalische Eigenschaften und Fähigkeiten Hand in Hand gehen und sich abstufen, welche ebenfalls zu einer Theorie unserer Ergebnisse heranziehbar sein und der Diskussion bedürfen könnten, sofern diese Eigenschaften für eine unseren Befunden entsprechende Veränderung der Porenweite maßgeblich werden können. Auf eine solche Eventualität werden wir am Schluß unserer Erörterungen zukommen (S. 113).

Einwürfe gegen unsere Beweisführung wären denkbar insofern die Stoffaufnahme in die Zellen unseres Objekts ja nicht chemisch bewiesen, sondern nur aus Turgeszenzversuchen erschlossen werden konnten. Dazu folgende Bemerkung: WINTERSTEIN (1916) hat in Modellversuchen mit tierischen Membranen (weitere Literatur vgl. z. B. bei JACOBS 1931) bei sehr starken narkotischen Konzentrationen (Äthylalkohol 5—6, Äther und Äthylurethan je 3, Chloroform 0,1—0,12 Vol.-%) nicht nur erschwerte Durchlässigkeit für Salze gefunden, sondern auch auf eine „hochgradige Herabsetzung der Wasserpermeabilität" aus der durch Wägung bestimmten Änderung des Wassergehalts der Modelle geschlossen. Theoretisch könnte auch in unseren Turgorversuchen mit

Bm ein durch Narkose erschwerter Wasseraustritt aus den Zellen im Spiel gewesen sein und dadurch zum Teil narkotisch gehemmte Penetration der gelösten Stoffe vorgetäuscht haben. Faktisch jedoch würden bei einer solchen Annahme die von uns gefundenen allgemeinen Zusammenhänge zwischen dem MV der penetrierenden Stoffe und den molekularen Längenwerten der homologen Alkohole unverständlich bleiben. Dasselbe gilt aber, da nichts für eine Quellbarkeitserhöhung spricht[1], auch von der Hypothese eines gehemmten Austrittes der Wassermolekeln, selbst bei Dipolassoziation, wenn in den weiten Poren, wie sie *Bm* auszeichnen, soviel größere Molekeln wie Glyzerin und Butyramid nur noch eben durch Nonylalkohol (Tabelle 5) nachweisliche Hemmung erfahren.

a) Der Porenweg.

1. Allgemeines. Die in vorliegender Arbeit mitgeteilten Ergebnisse erheben, wie wir glauben, den unserer UFT. gemäßen Grundgedanken eines die Permeation beherrschenden, *rein räumlichen Verhältnisses zwischen Porenweite und MV des penetrierenden Stoffes* zur Evidenz. Andersartige supplementäre oder Kompromiß-Hypothesen sind unnötig, da sich die bevorzugte Aufnahme lipoidlöslicher Stoffe vor den wasserlöslichen durch Berücksichtigung der verschiedenen Molkohäsion erklärt (Bogen 1950). Der sehr alte Streitpunkt scheidet also aus. Die Sachlage ist einheitlich und wird durch die schon von Pfeffer in seiner Tagmentheorie, auf die bereits Schönfelder (1930) in diesem Zusammenhang nachdrücklich hinwies, herangezogenen intermolekularen Kräfte geklärt.

Der Energiegehalt dieser van der Waalsschen Kräfte ist bei den lipoiden Stoffen klein, groß dagegen bei den hydrophilen. Solche Molkohäsionen, die bei Homologen aus der Viskositäts-Temperaturfunktion berechenbar sind, lassen sich in erster Annäherung aus Atomäquivalenten durch skalare Addition zusammensetzen; und zu ähnlichen Zahlen und Beziehungen hat die Berechnung der molekularen Oberflächenenergie (Bennet und Mitchell) geführt. Größere Energieskalare hat Dunkel aus der Verdampfungswärme abgeleitet, wonach also die zur Abtrennung zweier bereits z. T. entblößter Molekeln ausreichende Energie weit geringer ist, als wenn die beiden Gruppen allseitig von Molekeln umgeben sind. Und dabei erreichen die Energieskalare der hydrophoben Gruppen nur einen Bruchteil der Molkohäsion (in cal je Mol), welche den hydrophilen zukommt. Auch fällt erheblich ins Gewicht, daß bei Auflösung der für die H—C—H-Gruppe nach den beiden erstgenannten Methoden gefundenen Werte in Atomäquivalente sich

[1] Dafür, daß das Gegenteil (Herabsetzung der Quellbarkeit) viel wahrscheinlicher ist, vgl. Abschnitt b, S. 113.

für den Kohlenstoff *negative* Kohäsionen ergeben, so daß also diese die Kohäsionskräfte der Kettenglieder *verringern*. „Man kann sich dies veranschaulichen, indem man sich das Kraftfeld der H-Atome in der Weise abgeschirmt denkt, daß ein großer Teil der Kraftlinien zu den C-Atomen zurückkehrt und nicht von Molekül zu Molekül wirksam wird. Je mehr eine Bindung im Innern des Moleküls liegt, desto weniger trägt sie zur zwischenmolekularen Kohäsion bei. Es ist, als ob die Valenz die ganze Kraft zum Zusammenhalten des Moleküls aufnähme, und dann um so weniger zur Kohäsion der Moleküle untereinander übrigbleibt. Je fester daher die Valenzen sind, desto schwächer sind im allgemeinen die Kohäsionskräfte und umgekehrt" (UMSTÄTTER 1948).

Mit der Zunahme der Zahl hydrophober Gruppen (also vielfach mit wachsendem MV) der lipoidlöslichen Stoffe wird deshalb die Passage durch die Poren solcher Stoffe leichter werden, da diese Gruppen „weniger diffusionshemmend[1] wirken (als Grenzschichtmolekeln), bzw. weniger in der Diffusion gehemmt werden (als permeierende Moleküle": BOGEN 1950). Sie werden leicht in die lipoide Phase übertreten können, während C-Verbindungen mit nur hydrophilen Gruppen durch die starken VAN DER WAALSschen Kräfte und — wie wir hinzufügen — die elektrostatische Wechselwirkung mit den Dipolen des Wassers in der wäßrigen Phase der Poren verbleiben.

Es versteht sich danach leicht, und ist von BOGEN näher ausgeführt worden, daß mit kleiner werdenden Abständen von den Porenwänden (und damit natürlich vor allem bei so extrem engen Poren, wie sie für die große Mehrzahl pflanzlicher Plasmahäute charakteristisch sind) sowie in Anbetracht der sehr geringen Reichweite der VAN DER WAALSschen Kräfte der Gegensatz zwischen den leicht permeierenden ± hydrophoben und den schwer eindringenden ± hydrophilen Anelektrolyten immer stärker anwachsen muß, was ja eben die Aufstellung der Lipoid- bzw. Lipoidfilterhypothese veranlaßt hat. Das andere Extrem stellt *Bm* mit weitesten Poren dar, das aber immerhin auch noch den bevorzugten Import der Hydrophoben erkennen läßt.

Wenn nun unsere Versuchsergebnisse zeigten, daß die narkotische Hemmung der Passage mit wachsender Länge der Alkoholmolekeln sich über die Bereiche immer kleinerer Molekeln der permeierenden

[1] An Modellsystemen, und zwar monomolekularen Schichten von Oktylalkohol, Caprylsäure und n-Äthylnaphthol hat sich gezeigt, daß der Stoffdurchtritt mit wachsendem hydrophobem Anteil, also jeder hinzukommenden CH_2-Gruppe, stärker steigt, als nach der TRAUBEschen Regel zu erwarten, was nach PANKHURST (1942) auf die zwischen den hydrophoben Anteilen beider Partner wirksamen VAN DER WAALSschen Kräfte hinweist. Diesen würde also danach nicht nur eine verringerte Diffusionshemmung sondern auch aktuelle Förderung beim Durchtritt zu danken sein.

Stoffe ausdehnt, und zwar *in identischer Stufenordnung für lipophile und hydrophile Stoffe*, so werden wir dies *als ein Zeugnis dafür auffassen müssen, daß in der Tat beiderlei Stoffe durch die gleichen Poren nach innen gelangen.*

Damit erhebt sich die Frage, ob es nicht auch für die Hydrophoben eine „kritische" Teilchengröße gibt, oberhalb welcher aus räumlichen Gründen keine Passage mehr festzustellen ist. Für einen solchen Sachverhalt scheinen uns Beobachtungen zu sprechen, welche ULLRICH (1936) an den membranlosen Eizellen von *Cystosira barbata* gelungen sind. Er stellte fest, daß lipoidlösliche kleinmolekulare Stoffe wie Äthylalkohol und Methylazetat *nur Volumzunahme* dieser nackten Zellen, größermolekulare dagegen (wie viele hydrophile Stoffe) *vorher eine anfängliche Volumabnahme* erzeugten, so daß also ihre Penetration verlangsamt sein muß. Am stärksten gehemmt war das durch größtes Molekül ausgezeichnete lipoidlösliche Triäthylzitrat, welches sogar den Zusammenbruch der plasmatischen Grenzschicht in Tröpfchenform bewirkte, den der Verfasser als eine plötzliche Gerüstsprengung und *„Umwandlung des ursprünglichen Ultrafilters in eine homogene Flüssigkeitsschicht"* diskutiert. In der Tat sind, wie wir hinzufügen, solche damit vergleichbaren Penetrationen und Dispersionen an monomolekularen Modellfilmen nach Injektion hydrophober Stoffe festgestellt worden (vgl. z. B. BATEMAN in HÖBER 1947). ULLRICH glaubt, aus der *nur* von großmolekularen Stoffen verursachten Volumkontraktion den zwingenden Schluß auf eine Porenstruktur der ursprünglichen Grenzhaut ziehen zu müssen.

2. Alkoholfilm und Porenweite. Seit PFEFFERS grundlegenden Arbeiten wissen wir, daß über die Aufnahme gebotener Stoffe die Plasmaaußenfläche entscheidet, was innig in ihrer Struktur begründet sein muß. Schon wegen dieser Funktion muß sie sich also von derjenigen der inneren Plasmabezirke unterscheiden, doch sind unsere Kenntnisse darüber bekanntlich ganz und gar unzulänglich. Allgemein verbreitet ist die durch mancherlei Erfahrungen und viele physikochemische Erwägungen gestützte Überzeugung, daß die Plasmahaut neben Protein besonders reichlich Phosphatide und vielleicht auch Cholesterin enthält. Der uns gelegentlich gemachte Vorwurf, diese „lipoide" Struktur zu leugnen, läßt sich leicht durch den Hinweis widerlegen, daß schon im Jahre 1926 aus unserem Leipziger Institut eine, allerdings wenig beachtete Arbeit (WEIS 1926) hervorgegangen ist, die als Ergebnis (S. 183) die „lipoide Natur der Grenzschichten" betont.

Wir gehen zunächst von der gleichfalls sehr verbreiteten Auffassung aus, daß die apolaren Endigungen der Molekeln der den Grenzfilm bildenden Esterphosphatide die „Poren" bilden oder auskleiden, und daß die polaren Kopfgruppen in der wäßrigen Phase einer tiefer anstoßenden Proteinschicht verankert sind. Ob der Film mono- oder

durch die Reaktion komplexer Gruppen bimolekular usw. zu denken ist, braucht uns hier nicht weiter zu beschäftigen. Somit würden also die Poren größtenteils aus den zahlreichen apolaren CH_2- bzw. CH_3-Gruppen der Palmitin-, Stearin-, Ölsäure usw. -reste dieser Phosphatide bestehen und demnach etwa 18—25 Å tief sein. Zu Schwierigkeiten führt aber die *Weite* solcher „Poren", zumal bei Berücksichtigung der Frage der Stabilität des Films, da sich bei engster Packung Abstände von nur etwa 4—5 Å ergeben könnten. Diese Größenordnung erscheint aber schon für die gewöhnliche, sehr engporige und erst recht für die *Bm*-Plasmagrenzfläche mit ihren extrem weiten Poren, unzulänglich, für sie ja erst Trisaccharide die kritische Teilchengröße erreichen. Um so weniger bestände dann auch die zusätzliche Möglichkeit einer Auskleidung der Poreninnenfläche mit Alkoholfilmen.

Bekanntlich ist aber auch mancherseits (MOND 1924, DEUTSCH 1925) und namentlich auch neuerdings die Ansicht von der Proteinnatur oder wenigstens der Beteiligung von Proteinen am Filmaufbau (DANIELLI und HARVEY 1931) vertreten worden. Für einen solchen Proteinfilm berechnet K. H. MEYER den durchschnittlichen Abstand der freien Ladungen (bei maximaler Aufladung) der tangential gestreckten, langen Proteinketten zu 35 Å, der mit der Ladung aber natürlich abnimmt, so daß als Mittelwert vielleicht $\sim$ 20 Å oder weniger vermutet werden dürfen. Es würden sich somit unter Heranziehung der Vorstellung über „Haftpunkte" (FREY-WYSSLING 1938) Netzmaschen ergeben, wie wir sie uns am ehesten in den unbewegten, peripherstenPlasmabezirken vorstellen können, und deren Weite das Passieren unserer Anelektrolyte (z. B. der unpolaren Saccharose mit einem Molekeldurchmesser von 10,5 Å) erlauben müßte, während in gewöhnliche Pflanzenzellen schon Glukose (5,15 Å) nur noch schwer penetriert. Dabei ist aber auch noch der die Passage zunehmend erschwerende Hydratationszustand der Proteine zu beachten. Eine solche Vorstellung, welche auch für die hier nicht weiter zu diskutierende Passierbarkeit der Grenzschicht für Elektrolyte plausibel erscheint, würde ohne die Annahme besonderer Lipoidfilme auskommen, weil die diesen zugeschriebene Rolle von den apolaren Gruppen wie $-CH_3$, $-CH_2-$, $-CH_2O_5$ usw. der Polypeptidketten dieser Makromolekeln übernommen werden könnte, denen auch eine entsprechende Orientierung dank der um frei drehbare Valenzen sich drehenden $\pm$ größeren Atomgruppen zugeschrieben werden darf.

Es böte sich uns aber auch die Möglichkeit, uns die eigentlichen *Lipoide* (Lezithin usw.) im vitalen Zellzustand *an die im Plasma nach innen folgenden Proteinlamellen oder -mizellen gebunden zu denken*, wie es sich aus den bekannten, über den lebenden Zustand zuerst von PALLADIN (1910) entwickelten und später namentlich von LEPESCHKIN (1923 u. a. a. O.) propagierten Vorstellungen ergeben würde. Damit würden dann

die gegen die Beständigkeit und Porenenge des kondensierten reinen Lipoidfilms erhobenen Bedenken entfallen können. Daneben könnten die Grenzflächen außer den mit Hauptvalenzkräften gebundenen noch einen größeren Teil mit VAN DER WAALSschen Kräften adsorbierter Lipoidmolekeln enthalten.

Endlich möchten wir auch den Gedanken an die *Plasmodesmen* als die durch Alkoholfilme verengbaren Wege des Stoffverkehrs nicht von vornherein ausschließen, sofern ihre noch unbekannten Dimensionen und Strukturverhältnisse dem nicht entgegenstehen. Falls die von W. SCHUMACHER (1942) in den Außenwänden der Epidermiszellen entdeckten Bildungen dieser Art nach außen münden, würden die Plasmodesmen ja nicht nur für den interzellularen Stoffaustausch, sondern auch für den mit dem *Außenmedium* in Betracht kommen. Wir würden dann bei Narkose eine Lähmung (Verlangsamung) des gesamten Stoffverkehrs vermuten können.

Da, wie erwähnt (S. 108), die Bildung einer ungeordneten Gibbs-Schicht aus Alkoholmolekeln zur Erklärung unserer Versuchsergebnisse nicht ausreicht, müssen wir kondensierte Filme auch bei diesen annehmen, welche mit den polaren Enden der Molekeln nach innen gestreckt, also vertikal zu den Porenwänden, nach Maßgabe der Kettenlänge die Poren $\pm$ verengen können, eine Orientierung, welche in den Kopfgruppen der Esterphosphatide oder in polaren Gruppen der Proteinunterschicht wie OH^-, $COOH^-$ (mit ihrer besonderen Neigung zur Assoziation mit den OH^--Gruppen der Alkohole!) und NH_2^- in reichem Maße ihre Grundlage finden könnte. Detailliertere Diskussionen würden indessen beim Mangel unserer Kenntnisse schwerlich zu verläßlichen Anschauungen führen können. Auch wäre in eine solche Erörterung das Verhalten der Elektrolyte einzubeziehen, was nicht mehr im Rahmen unseres Gegenstandes liegt.

b) Dehydratation.

Eine ganz andere Erklärung der Narkose, nämlich durch Herabsetzung des Quellungszustandes der Zellen hat schon DUBOIS (1884, 1894) versucht, und diese ist, soweit wir sehen ohne ausdrückliche Anknüpfung an DUBOIS, noch wieder von SEELICH (1940, 1941) angestrebt worden, der die Theorie speziell auf die plasmatische Grenzfläche abstellt, und damit, auch nach *seiner* Auffassung von der Narkose, auf das für sie wesentliche Gebiet der Permeabilität. Dies und das Gewicht seiner Argumente ist es, was die Darlegungen des genannten Autors auch für uns beachtlich erscheinen läßt. Es dürfte deshalb eine kurze Betrachtung der Hauptpunkte dieser Theorie der Narkose angebracht sein.

SEELICH geht in seiner zusammenfassenden Darstellung über den Mechanismus der anästhesierenden Wirkung (1941) von einem Rückblick auf die einander gänzlich widersprechenden Narkosetheorien aus, die, obwohl anscheinend widerlegt, in neuerer Zeit vielfach wieder verteidigt worden sind, so daß wir von einer Lösung des Problems noch weit entfernt scheinen, obwohl der Reaktionsmechanismus, verglichen mit den Reaktionen spezifischer Stoffe, relativ einfach sein müsse. „Denn wie wäre es sonst denkbar, daß es chemisch recht indifferente Stoffe sind, die die Erscheinungen der Narkose auslösen, daß diese Stoffe den Organismus unverändert wieder verlassen und daß auch eine relativ einfache Beziehung zwischen Molekülstruktur und Wirkungsstärke festzustellen ist?" Es handle sich zweifellos um eine *physikalische* Reaktion, die „da sie auch bei den primitivsten Lebewesen und Zellen eintritt, an den primären Zellkomponenten angreifen muß". SEELICH denkt an nicht osmotisch, sondern *durch die Narkotika hervorgerufene* (nur bei Überdosierung irreversible) *Quellungsveränderung* als Ursache des Permeabilitätswechsels.

SEELICH betrachtet einleitend ein zweiphasiges System, z. B. Wasser/Öl, in welchem die freie Grenzflächenenergie um so niedriger, je geringer die für die Bildung der Grenzfläche nötige Arbeit ist. Sie besteht im Transport der Molekeln aus dem Inneren der Phase an die Grenze und ist um so geringer, je größere Affinität die Molekeln der wäßrigen zu denen der Ölphase haben, d. h. je stärker die Hydratationskräfte sind. Bei Zusatz eines dritten, in beiden Phasen löslichen Stoffes wird nach Einstellung des Verteilungsgleichgewichts nur dann eine Anreicherung an der Phasengrenze möglich, wenn durch eine derartige Grenzflächenadsorption die freie Energie erniedrigt wird, d. h. nur dann, wenn dieser Stoff auf Grund seiner Molekelstruktur in der Lage ist, die Steilheit des Energieabfalles an der Phasengrenze zu vermindern. „Dies bedeutet also eine Hydratationssteigerung der Grenzschicht oder (wenn man den Vorgang umgekehrt betrachtet) eine erhöhte Ölbindung der H_2O-Molekeln durch die Zwischenschaltung des Stoffes." Dessen Adsorptionstendenz (= Grenzflächenaktivität) entspricht dann der bei der Adsorption frei werdenden Energie. Der Betrag der Energieabnahme hängt aber nicht nur von der Natur des Stoffes, sondern auch von der „initialen" freien Grenzflächenenergie (d. h. von der vor der Adsorption vorhandenen freien Grenzflächenenergie) ab und ist also um so höher, je höher die Adsorptionsaffinität des Stoffes ist. Für diesen gibt es einen Grenzwert der initialen freien Grenzflächenenergie, unter welchem überhaupt keine Adsorptionsschicht gebildet werden kann, da die Wärmebewegung einer Anreicherung an der Phasengrenze entgegenarbeitet. Statt initialer freier Grenzflächenenergie kann man aber wegen ihrer erwähnten Beziehung zur Hydratation auch „initiale Hydratation" setzen, so daß also eine Grenzfläche um so adsorptionsfähiger ist, je weniger sie hydratisiert ist. Ein Beispiel dafür wäre die starke Adsorption an einer so wenig hydratisierten, hydrophoben Grenzfläche wie Kohle/Wasser, während an stark hydratisierten Grenzflächen überhaupt nichts angereichert wird.

Da nach SEELICH vor allem Proteine als Grenzflächen in Frage kommen, diese also stark hydratisiert sind, so muß nach dem eben wiedergegebenen Gedankengang deren initiale freie Grenzflächenenergie so niedrig sein, daß Adsorptionsvorgänge kaum möglich sein werden. Doch können gewisse Molekelgruppen,

z. B. freie Carboxyl- oder Aminogruppen der Eiweißkörper mit Kraftfeldern der Narkotikamoleküle reagieren, nach Art eines Lösungsmittels in dem zur Lösung kommenden Stoff, wie überhaupt aktive polare Gruppen mit ebensolchen Gruppen bzw. molekularen Kraftfeldern des anderen Stoffes. Die Grenzfläche einer wäßrigen gegen eine nichtwäßrige Phase wird also durch solche Reaktion der hydrophilen Gruppen dehydratisiert und damit ihre freie Grenzflächenenergie erhöht werden, wofür die freiwerdende Bindungsenergie den Aufwand liefert. Die Bindung braucht nicht auf die Phasengrenze beschränkt zu bleiben, sondern die Narkotika dürften permutoid durchreagieren und „entsprechend ihrem Verteilungsgleichgewicht einen bestimmten Prozentsatz sämtlicher vorhandener reaktionsfähiger Gruppen besetzen. Da für eine derartige Bindung in erster Linie nicht die typischen Adsorptionskräfte, sondern die Solvatationsenergien maßgebend sind, könnte man eher von einer ‚Lösung' der betreffenden Narkotika in den Eiweißkörpern sprechen als von einer Adsorption." Der Verfasser weist in der Frage Adsorption oder Lösung unter bezug auf die von K. H. Meyer und Hemmi (1935) erörterten Bedingungen der Verteilung eines Stoffes zwischen einer wäßrigen und nichtwäßrigen Phase darauf hin, daß die Verteilungsisothermen allein hier noch keine Entscheidung ermöglichen, da Adsorptions- und Lösungsisothermen sich nicht immer grundsätzlich unterscheiden, was er für große Verdünnungen mathematisch begründet, bei denen die Langmuirsche Adsorptionsgleichung in die des Henryschen Gesetzes oder des Nernstschen Teilungskoeffizienten übergeht.

Wie Seelich auch an Modellsystemen mit 2 flüssigen Phasen mit einem modifizierten Tensiometer nach Lecomte du Nouy dartun konnte, erhöhten die als Narkotika gewählten Stoffe ($CHCl_3$ sowie die Alkohole C_1—C_5) in optimalen Konzentrationen die Grenzflächenspannung, wirkten also dehydratisierend. Die Spannungswerte stiegen bei den homologen Alkoholen mit dem MG, und zwar je hinzukommende Methylengruppe um etwa das 3fache. Es würde sich also in Analogie zu dieser Dehydratation der Phasengrenzfläche am Modell eine mit der Kettenlänge abgestufte Schrumpfung der Grenzfläche und entsprechende stufenweise Verengung der Poren am lebenden Objekt ergeben können, die eine nach dem MV der permeierenden Stoffe abgestufte Penetrationshemmung, wie wir sie festgestellt haben, auf eine einfache und anschauliche Weise erklären könnte, sofern die in diesem Falle ganz unbekannten Werte der Porenverengerung zu unseren Versuchsergebnissen passen würden. Wir müssen hier also Zurückhaltung üben. Insbesondere scheinen uns die verschiedenen Wirkungen von Alkoholen mit gleicher Zahl von Paraffingliedern, je nachdem deren Kette verzweigt oder gerade ist (vgl. iso- und n-Butylalkohol, Tabelle 5 und S. 107 und 108 des Textes) bis auf weiteres aufs stärkste für die Bildung kondensierter Filme und somit für die im Unterabschnitt 2a, S. 109 entwickelte Vorstellung vom Zustandekommen der Permeationshemmungen zu sprechen. Aber alle unsere Anschauungen über die uns unbekannte Struktur der Plasmagrenzhaut werden sich vermutlich noch lange an immer neuen experimentellen Erfahrungen und Erkenntnissen zu erproben haben. Bisher sind gegen alle bislang auf-

gestellten Schemata Einwände physikalischer und physiologischer Art erhoben worden, und wir dürfen vielleicht hoffen, daß auch unsere Ergebnisse unter diesen Konzeptionen eine gewisse Auswahl anbahnen können.

c) Narkose.

Der Permeabilitätstheorie der Narkose wurde bereits mehrfach oben (unter anderem S. 107) gedacht. Einwände werden wohl auch gegen SEELICHs Argumentationen, so plausibel sie scheinen, zu erheben sein. So hat WINTERSTEIN (1926, S. 400) gegen alle Theorien der Narkose, welche sich auf den verminderten Quellungszustand der plasmatischen Grenzphase als Erklärung der verminderten Permeabilität stützen, sogar den summarischen Einwand erhoben, daß „dann eine narkotische Lähmung bei jeder Art von Entquellung beobachtet werden müßte, gleichviel auf welche Weise sie hervorgerufen wird". Indessen scheint uns dieser Schluß doch nicht ganz bündig, deshalb, weil ja die Narkotika, und unter ihnen sicher auch unsere homologen Alkohole, sich rasch weiter ins Plasmainnere hinein ausbreiten und in den auch dort nicht fehlenden Lipoiden, Fetten usw. sich sammeln werden, was für die Erzielung narkotischer Wirkung nicht unerheblich, ja eher die Hauptsache sein kann. Das war es wohl auch, was die älteren Theorien der Narkose (OVERTON 1901), H. H. MEYER (1899, 1901 usw.) besagten, und was noch neuerdings von K. H. MEYER und HEMMI (1935) ausdrücklich vertreten worden ist[1].

Mit einer vielleicht für das Zustandekommen der Narkose wesentlichen Ansammlung der Narkotika in den Lipoiden und Fetten des Zellinnern würde auch die Dehydratationstheorie SEELICHs in keinerlei Widerspruch stehen, sofern während oder sogar noch nach der durch sie hervorgerufenen Durchlässigkeitsbeschränkung noch genug Narkotikum zu permeieren vermag, um sich im Innenraum der Zelle auszubreiten. Daß dies wenigstens bei *Bm* der Fall ist, kann keinem Zweifel unterliegen, da hierzu, wie wir sahen, selbst bedeutend schwerer penetrierende Stoffe als die Anästhetika imstande sind.

So unbedingt auch die Frage nach der wahren Struktur der Plasmahaut mit einem „non liquet" zu beantworten ist, dürften unsere experimentellen Ergebnisse weder mit den verbreiteten Vorstellungen von dieser Struktur noch mit den Dehydratationstheorien der Narkose, soweit die nach ihnen sich ergebende Porenweite genügt, im Widerspruch stehen. Überall beherrschen *räumliche Verhältnisse* die Permeation nicht nur der hydrophilen, sondern auch der ± hydrophoben Stoffe, und für beide Stoffkategorien ist der *gleiche Porenweg* zuständig. Denn anders

[1] Mit diesen Auffassungen wäre allerdings die Angabe von HILLER (1927) nicht zu vereinigen, wonach Mikroinjektionen von Narkoticis in das Innere von Amöben nie Narkose verursachen soll, wohl aber bei Darbietung von außen.

dürfte der Befund, nicht verstehbar sein, daß bei vergleichbarer Größe von beiderlei Molekeln die narkotische Hemmung der Diffusion nach innen bei einem Alkohol von gleicher Kettenlänge einsetzt, um sich mit allen von längerer Kette zu wiederholen und auf Stoffe von kleinerem Molekül überzugreifen.

Die Narkose als solche war nicht Gegenstand unserer Untersuchungen, sondern nur deren experimentelles Mittel. Das Ziel der Narkosetheorien, die physikalische Erklärung des Zustandekommens des narkotischen Zustandes zu diskutieren, gehört deshalb auch nicht hierher. Nur folgendes sei bemerkt: Am nächsten berühren sich mit unserer vorliegenden Mitteilung gewisse Vorstellungen mancher Autoren, welche den Zustand der Narkose mit dem Diffusionswiderstand identifizieren möchten, obwohl beides offensichtlich inkommensurable Dinge sind. Sachlich haben wir auch im experimentellen Teil mehrfach betont, daß die von den Anästheticis ausgehende Durchlaßhemmung, wenigstens bei der weitporigen *Bm*, viel zu schwach ist, um den endlichen Konzentrationsausgleich des permeierenden Stoffes nicht nur zu verzögern, sondern ganz und gar zu verhindern. Allenfalls könnte damit die geringe Wirkung der Narkose (keine Sistierung der Bewegungen!) auf *Bm* zusammenhängen. Eine völlige Blockierung *enger* Poren in der Narkose erscheint zwar denkbar, ist aber unseres Wissens noch bei keinem lebenden Objekt bewiesen worden. Noch weniger, wenn überhaupt nennenswert, werden unsere Narkotika am Import gehindert, so daß mit steigender Ansammlung im Zellinnern die Manifestierung der Narkose immer stärker werden kann.

d) Allgemeine Schlußbemerkungen.

1. Die Grenzflächen. Auf welche Grenzflächen wirken nun die Alkohole durchlaßhemmend ein? Bekanntlich besitzen die Zellen der *Bm* ganz wie die Dauerzellen gewöhnlicher Pflanzen je eine relativ riesige Vakuole (Hinze 1902), so daß auch hier zwischen einer „Transmeation" [d. h. nur bis ins Plasma hinein (Arisz 1945)] und einer Permeation (bis ins Innere der Vakuole) unterschieden werden muß. An sich wird unsere Turgormethode ebenso wie die übliche plasmolytische im Sinne einer Passage durch die innere Grenzschicht gedeutet. Eine leichtere Durchlässigkeit der äußeren und Weiterbeförderung im „Symplasma" (Münch) wird neuerdings öfter vermutet, und, wenn wir ihre Argumentation recht verstehen, selbst für bisher allgemein als schwer penetrierend betrachtete Stoffe wie Glukose und sogar Saccharose auf Grund von Versuchen mit ganzen Wurzeln von Wiersum (1946/47) angegeben, die uns allerdings noch nicht überzeugen konnten.

Tierzellen besitzen bekanntlich keine derartigen Vakuolen, so daß bei ihnen nur *eine* (die äußere) Grenzfläche in Betracht kommt.

Beachtet man, daß auch bereits für eine Anzahl von Tierzellen eine mit der Molekelgröße abnehmende Durchlässigkeit für Anelektrolyte (MOND und HOFFMANN 1928a und b, HÖBER 1947) festgestellt und als Durchlaßweg Poren („Porenpermeabilität") in der Grenzfläche in Anspruch genommen werden, so daß hier der dadurch geregelte Stoffverkehr zwischen Außenmedium und Zelle vor sich geht, und beachtet man weiter daß tatsächlich dieser Stoffverkehr durch Adsorption von Anästheticis gehemmt oder sogar blockiert werden kann, so haben wir eine volle Analogie zur Pflanzenzelle und werden kaum noch Bedenken haben, unsere mitgeteilten Ergebnisse auf die *äußere* Plasmahaut zu beziehen.

2. Elektrolyte. Wenn wir glauben, durch unsere vorstehenden Versuche dargetan zu haben, daß die UFT. auch für die sog. „lipoidlöslichen" Anelektrolyte gilt, so liegt die Frage bei den Elektrolyten, wie schon bei manchen schwach dissoziierenden „Anelektrolyten" anders und schwieriger. Bei großporigen Objekten wie unserer *Bm* ist ein Einfluß der Raumerfüllung organischer Anionen auf die Penetration im Sinne der UFT. unverkennbar (RUHLAND, ULLRICH und ENDO 1938), so daß der Porenweg und somit das Obwalten räumlicher Verhältnisse auch hier anzunehmen ist. Doch interferieren hier (im Sinne unseres auf S. 93, Anmerkung 1 zitierten Satzes) bereits manche bedeutende physikochemische Einflüsse anderer Art, die a. a. O. für die Anionen von 26 Säuren behandelt worden sind. Erst recht und aufs stärkste müssen sich solche Einflüsse als Überlagerungen bei den gewöhnlichen engporigen Pflanzenobjekten auswirken, und zumal für anorganische Ionen. Vor allem kommt hinzu, daß häufig noch ein aktives Eingreifen der Zelle anzunehmen ist, über dessen Zustandekommen die Auffassungen noch divergieren[1]. Sicher gestellt ist aber die Steigerung der Aufnahme durch Sauerstoffzufuhr und entsprechenden -verbrauch. Nicht außer Acht gelassen werden sollte aber vielleicht hier und im Gegenfall (O_2-armes Medium) die Möglichkeit der Mitwirkung einer durch diese Bedingungen veränderten physikalischen Struktur der resorbierenden Grenzfläche, ähnlich wie eine solche ja auch durch Licht anzunehmen ist, wenn es die Durchlässigkeit verändert.

D. Kurze Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

1. Narkose mit nicht überdosierten primären Alkoholen der gesättigten aliphatischen Reihe hemmt reversibel die Diffusion hydrophiler

[1] Leider sind viele derartige Untersuchungen immer wieder mit Scheiben aus parenchymatischen Speichergeweben nach dem Vorgang von NATHANSOHN (1903) (vgl. dagegen RUHLAND 1908, bes. S. 41—43) benutzt worden. Zuverlässige Ergebnisse werden mit solchen Objekten aus mehreren Gründen kaum erzielbar sein. (Diffusion von außen gebotener Salze in die Zellmembranen, partielle oder komplette kapillare Injektion der Interzellularen, Reste beim Schneiden verletzter oder toter Zellen an den Schnittflächen, ungleiche Konzentration in den Zellen, die auch bei dünnen Scheiben nach dem Inneren zu abnimmt usw.)

und hydrophober Stoffe in die Zellen von *Beggiatoa mirabilis*. Diese sind grundsätzlich ebenso organisiert wie die typischer Pflanzen (große Vakuole, dünner peripherer Plasmaschlauch).

2. Diese Hemmung erstreckt sich mit wachsender Länge der Alkoholmolekeln stufenweise auf immer kleinere Molekelbereiche der penetrierenden Stoffe.

3. Der auf die Länge der Alkohol- und penetrierenden Stoffmolekeln bezogene Hemmungsbereich ist für hydrophile und hydrophobe Stoffe der gleiche (Tabelle 5).

4. Aus den Versuchsergebnissen wird geschlossen, daß die Alkohole an den Porenwänden der Plasmaaußenfläche nicht in einer Gibbs-Schicht, sondern phasenorientiert einen monomolekularen, die Porenwände ganz oder zum Teil auskleidenden „kondensierten" Film bilden. Die Möglichkeiten für die Dimensionen von Lipoid-, Protein- und Lipoproteinporen werden erörtert.

5. Auch eine reversible narkotische Verengung der Poren, wie sie nach den Dehydratationstheorien der Narkose anzunehmen wäre, würde unter gewissen Voraussetzungen eventuell mit den Ergebnissen im Einklang stehen können.

6. Die Versuchsergebnisse werden als beweisend dafür angesehen, daß hydrophile und hydrophobe Stoffe durch die gleichen Poren penetrieren.

7. Die Befunde werden ferner als Bestätigung der Ultrafiltertheorie angesehen, nach welcher rein räumliche Beziehungen zwischen Molekelgröße und Porenweite der Plasmagrenzphase über die Penetration entscheiden. Dabei ist für die oft diskutierte und kausal umstrittene geringere Penetrationsgeschwindigkeit der hydrophilen („lipoidunlöslichen") Stoffe die Interferenz VAN DER WAALSscher („zwischenmolekularer") Kräfte verantwortlich zu machen (BOGEN 1950), die sich bei ihrer geringen Reichweite in den viel engeren Poren gewöhnlicher Pflanzen- (und Tier-)zellen weit stärker zur Geltung bringen als bei unserem Versuchsobjekt.

Literatur.

ANSELMINO, K.: Pflügers Arch. **220**, 524 (1928). — ARISZ, W. H.: Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. Amsterdam, afd. Nat. **53** (1944). — BÄRLUND, H. J.: Act. Bot. Fenn. **5**, 1 (1929). — BOGEN, H. J.: Planta (Berl.) **38**, 65 (1950). — COLLANDER, R.: Kolloidchem. Beih. **19**, 72 (1924). — Physiol. Plant. **2**, 300 (1949a). — Acta chem. Scand. **3**, 717 (1949b). — COLLANDER, R., u. H. J. BÄRLUND: Act. Bot. Fenn. **11**, 1 (1933). — COLLANDER, R., u. B. WIKSTRÖM: Physiol. Plant. **2**, 235 (1949). — DANIELLI, J. F.: J. cellul. a. comp. Physiol. **7**, 393 (1936). — DANIELLI, J. F., and H. DAVSON: J. cellul. a. comp. Physiol. **5**, 495 (1935). — DANIELLI, J. F., and E. N. HARVEY: J. cellul. a. comp. Physiol. **5**, 483 (1935). — DAVSON, H., and J. F. DANIELLI: The permeability of natural membranes. Cambridge 1943. — DUBOIS, R.: C. r. Soc. Biol. Paris **36**, 582 (1884). — Anesthésie physiologique. Paris 1894. — DUNKEL, M.: Z. physik. Chem., A **138**, 42 (1928). —

Fischer, H.: Ber. dtsch. bot. Ges. **48**, 426 (1925). — Freundlich, H.: Kapillarchemie, 4. Aufl. Leipzig 1930/32. — Frey-Wyssling, A.: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Berlin 1938. — Gellhorn, E.: Das Permeabilitätsproblem. Berlin 1929. — Lehrbuch der allgemeinen Physiologie. Leipzig 1931. — de Haan, Iz.: Rec. trav. bot. néerl. **30**, 234 (1933). — Heilbrunn, L. V.: The colloid chemistry of protoplasm. Berlin 1938. — Hiller, S.: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. **24**, 938 (1927). — Hinze, G.: Wiss. Meeresunters., Kiel, N. F. **6** (1902). — Höber, R.: Pflügers Arch. **120**, 492 (1907). — Z. Physiol. **173** (1910). — Pflügers Arch. **174**, 218 (1919). — Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe, 6. Aufl. Leipzig 1926. — Physical Chemistry of Cells and Tissues. Philadelphia, Toronto 1945. Deutsche Übersetzung von W. Wilbrandt und R. Stämpfli. Bern 1947. — Jacobs, M. H.: Erg. Biol. **7**, 35ff. (1931). — Kisch, B.: Z. Biol. **60**, 399 (1913). — Klas, Z.: Arch. f. Mikrobiol. **8**, 312 (1937). — Lazarew, W. W., J. N. Lawrow u. A. P. Matwejew: Biochem. Z. **217**, 454 (1930). — Lepeschkin, W. W.: Ber. dtsch. bot. Ges. **27**, 129 (1909); **41**, 179 (1923). — Lillie, R. S.: Amer. J. Physiol. **24**, 14 (1909); **29**, 372 (1912); **30**, 1 (1912b). — J. of exper. Zool. **16**, 591 (1914). — Biol. Bull. **30**, 311 (1916). — Meyer, H. H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **42**, 109 (1899); **46**, 338 (1901) und a. a. O. — Meyer, K. H., u. H. Hemmi: Biochem. Z. **277**, 39 (1935). — Meyer, K. H., u. H. Hopf: Z. physiol. Chem. **126**, 281 (1923). — Michaelis, L.: Naturwiss. **14**, 33 (1926). — Kolloid. Z. **62**, 2 (1933). — Mond, R., u. Fr. Hoffmann: Pflügers Arch. **219**, 467 (1928a); **221**, 460 (1928b). — Mothes, K.: Planta (Berl.) **12**, 686 (1931); **19**, 117 (1933). — Nathansohn, A.: Jb. Bot. **38**, 241(1903). — Osterhout, W. J. V.: Injury, recovery and death in relation to conductivity and permeability. Philadelphia u. London 1922. (Vgl. besonders das Kapitel „Anesthesis", dort weitere Literatur.) — Overton, E.: Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **44**, 88 (1899). — Studien über die Narkose. Jena 1901. — Palladin, W.: Ber. dtsch. bot. Ges. **28**, 120 (1910). — Pankhurst, K. G. A.: Proc. roy. Soc. Lond., A **179**, 393 (1942). — Rideal, E. K.: Proc. roy. Soc. Lond., A **155**, 684 (1936). Zit. nach Bateman in Höber 1947. — Rothert, W.: Jb. Bot. **39**, 1 (1904). — Ruhland, W.: Jb. Bot. **46**, 1 (1908); **51**, 376 (1912). — Ber. dtsch. bot. Ges. **30**, 139 (1912). — Ruhland, W., u. C. Hoffmann: Planta (Berl.) **1**, 558 (1926). — Ruhland, W., u. K. Ramshorn: Planta (Berl.) **28**, 471 (1938). — Ruhland, W., H. Ullrich u. G. Yamaha: Planta (Berl.) **18**, 338 (1933). — Ruhland, W., H. Ullrich u. S. Endo: Planta (Berl.) **27**, 650 (1938). — Scarth, G. W.: Protoplasma (Berl.) **1**, 204 (1927). — Schmidt, F. O., R. S. Bear and E. Ponder: J. cellul. a. comp. Physiol. **11**, 414 (1938). — Schönfelder, S.: Planta (Berl.) **12**, 414 (1930). — Schumacher, W.: Jb. Bot. **90**, 530 (1942). — Seelich, F.: Pflügers Arch. **243**, 283 (1940). — Erg. Physiol. **44**, 425 (1941). — Stuart, H. A.: Molekülstruktur. Berlin 1936. — Traube, I.: Ann. Chem. **265**, 27 (1891). — Tröndle, A.: Jb. Bot. 48, 171 (1910). — Ullrich, H.: Planta (Berl.) **2**, 295 (1926). — Protoplasma (Berl.) **26**, 183 (1936). — Umstätter, H.: Strukturmechanik. Ein Beitrag zur Physik der Kolloide. Dresden u. Leipzig 1948. — Weevers, Th.: Fifty years of plant physiology. Amsterdam 1949. — Weis, A.: Planta (Berl.) **1**, 145 (1926). — Wiersum, L. K.: Rec. trav. bot. néerl. **41**, 1 (1946/47). — Winterstein, H.: Biochem. Z. **75**, 71 (1916). — Die Narkose in ihrer Bedeutung für die allgemeine Physiologie, 2. Aufl. Berlin 1926.

Prof. Dr. W. Ruhland, (14a) Unterdeufstetten, Schloß, über Crailsheim.

Planta, Bd. 39, S. 91—104 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock.

MORPHOLOGISCHE UND ANATOMISCHE STUDIEN AN SCHIZOCAPSA PLANTAGINEA HANCE.

Von

BERNHARD KAUSSMANN.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. November 1950.)

Einleitung.

Schizocapsa plantaginea HANCE gehört zu der kleinen Familie der Taccaceen und wurde durch HANCE (23) als eigene Gattung von den übrigen Taccaceen abgetrennt. Dem Habitus nach ist sie den Arten der Sektion *Ataccia* PAX ähnlich, unterscheidet sich aber von allen anderen Taccaceen dadurch, daß sie eine Kapsel ausbildet, während jene eine Beere entwickeln.

Unsere morphologischen und anatomischen Kenntnisse dieser Pflanzenfamilie sind sehr lückenhaft und fehlen über *Schizocapsa plantaginea* vollkommen. Eine ältere anatomische Arbeit von QUÉVA (41) und die Untersuchungen LIMPRICHTs (29) haben die Verhältnisse in den Sektionen *Ataccia* PAX und *Eutacca* PAX aufgehellt. Jedoch wäre es wünschenswert, auf vergleichend morphologischer Basis diese Familie nochmals zu behandeln.

Die Verbreitung der Taccaceen erstreckt sich über die gesamten Tropen der neuen und alten Welt. Es lassen sich drei verschiedene Areale abgrenzen, das indisch-malayisch-polynesische, das afrikanisch-madagassische und das tropisch-amerikanische. Die Pflanzen sind hauptsächlich in den feuchten und schattigen Gebirgs- und Küstenwäldern zu finden. *Schizocapsa plantaginea* kommt auf engbegrenztem Raum in Südchina vor, wo sie im Jahre 1879 von E. FABER am North River beschrieben wurde.

Im folgenden sollen einige morphologische und anatomische Beobachtungen im Bereich der Blütenstände von *Schizocapsa plantaginea* dargestellt werden. Zu gegebener Zeit wird eine entwicklungsgeschichtliche Studie folgen*.

Bemerkungen zu den Abbildungen. Um unnötige Wiederholungen zu vermeiden, mögen hier die häufigsten Bezeichnungen, die in den Figuren wiederkehren, erklärt werden:

* Für die Beschaffung des Untersuchungsmaterials sei Herrn Garteninspektor RULSCH, Rostock, herzlichst gedankt.

I Terminalblüte.
II—*IX* Blüten der Wickel, ihrer Entstehungsfolge nach bezeichnet.
β_1 u. α_1 „Vorblätter" der Terminalblüte.
β_2, β_3 ... fadenförmige Vorblätter der Blüten *II*, *III*, ...
V Vegetationspunkt.
V_m Ventralmeristem.
P_c Leitbündelanlagen.
J Interzellularen.
O Oberseite.
P Perianth.
S_t Staubblätter.
F Fruchtblätter.
F_H Fruchtblatthöhlung.
F_r Fruchtblattrand.
Q Querzone
S_a Samenanlage
S Sproßscheitel.
D_m Dorsalmedianus.
L Lateralis.
$L + L$ verschmolzene Seitennerven zweier benachbarter Karpelle.
iE_p Innenepidermis.
S_w Schwellgewebe.
W_i Widerlager.

I. Die Infloreszenz.

Wie bei allen anderen Taccaceen entspringen auch bei *Schizocapsa plantaginea* HANCE alle Blütenstiele fast in gemeinsamer Höhe am Ende einer Infloreszenzachse und werden von einem Kranz Hochblätter umgeben. Daher bildet die Gesamtheit aller Blüten scheinbar eine Dolde (Abb. 1). Als solche sind früher die Blütenstände der Taccaceen von ENDLICHER (13), KUNTH (27) und SCHULTES (44) aufgefaßt worden. Bei BAILLON (2) findet man eine Andeutung des wahren Verhaltens, aber erst EICHLER (12) hat richtig erkannt, daß bei der von ihm untersuchten *Tacca cristata* JACK eine Doppelwickel vorliegt, deren beide Äste gewöhnlich einander symmetrisch sind. PAX (38) spricht von scheindoldigen Blütenständen mit einer Terminalblüte, von der zwei Wickeläste ausgehen.

Betrachten wir die Infloreszenz von *Schizocapsa plantaginea* (Abb. 1), so erscheint auch sie doldig, da Blüten und Hochblätter annähernd in gleicher Höhe inseriert sind. Vier blattartig entwickelte Hochblätter bilden ein Involucrum, das während der Entwicklung des Blütenstandes den Knospenschutz übernimmt. Einen jungen Blütenstand zeigt Abb. 2 *A*. Die beiden median gestellten Spathablätter (*b* und *a*) sowie das eine Vorblatt (β_1) der Primanblüte (*I*) sind abpräpariert. Die zuerst aufblühende Terminalblüte *I* tritt bereits stark hervor, ein Verhalten, das CEJP (6) für die Doppelwickel als gewöhnlich bezeichnet hat. Blüten *II*, *III* ... sind ihrer Entstehungsfolge nach beziffert. Die Wickel bestehen aus symmetrischen Ästen von wechselnder Blütenzahl. Übersichtlicher sind die Verhältnisse im Querschnitt Abb. 3 *A*, wo die Blütenstiele getroffen sind. Die fadenförmigen Vorblätter, auf die noch später eingegangen werden soll, stehen in zwei Reihen, rechts und links einer jeden Wickel. Die Anordnung der einzelnen Infloreszenzteile gleicht völlig der von EICHLER (12) bei *Tacca cristata* beschriebenen. Er faßt *a* und *b* als Spatha, die mit ihr alternierenden Organe α_1 und β_1 als Vorblätter der Terminalblüte *I* auf, die zugleich Tragblätter von *II* sein sollen. β_2, β_3 ... sind Vorblätter von *II*, *III* ... Ebenso wie bei *T. cristata* ist bei

Schizocapsa plantaginea die Endblüte (*I*) dem Spathablatt *b* genähert (Abb. 2*A* und Abb. 3*A*). EICHLER (12) vertritt daher die Meinung, daß sie möglicherweise ein Achselprodukt desselben sei, obgleich er bei *T. cristata* „eine blinde Endigung des Schaftes", die also nach Seite *a* hin zu suchen wäre, nicht gefunden hat. Bei unserer Pflanze konnte ich ebenfalls keine Endigung des Schaftes auffinden und auch das zelluläre Gefüge läßt Reste eines Vegetationspunktes nicht erkennen. Es ist also wahrscheinlich gemacht, daß wir eine Terminalblüte in *I* vor uns haben. GOEBEL (20) diskutiert diese Dinge im Zusammenhang mit den von

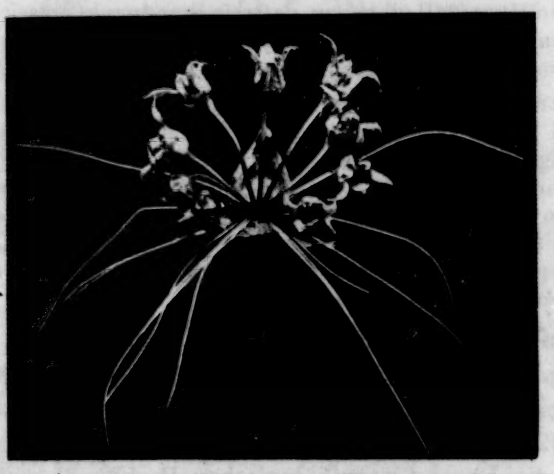


Abb. 1. *Schizocapsa plantaginea*. Infloreszer . Blüten und Hochblätter sind fast in gleicher Höhe inseriert. Die Zahl der fadenförmigen Vorblätter ist größer als die der entwickelten Blüten.

EICHLER (12) geprägten Begriffen der Spatha- und Vorblätter. Man könne von Vorblättern nur dann reden (α_1 und β_1 in Abb. 3*A* und *B*), wenn die erste Blüte nicht terminal stehe. Ist sie aber endständig, so seien α_1 und β_1 nur als Hochblätter anzusehen. Eine entwicklungsgeschichtliche Untersuchung, wie sie GOEBEL (20) fordert, war nicht durchzuführen, jedoch da kein Vegetationskegelrest festgestellt werden konnte, möchte ich mich der Meinung GOEBELs (20) anschließen, daß α_1 und β_1 nicht Vorblätter der Blüte *I* sind, sondern Involucralblätter.

Wir haben nun die Art der Wickelbildung zu studieren. In einem jungen Blütenstand (Abb. 2*A*) sind alle Teile fast gleichzeitig weit entwickelt. Wenn die Infloreszenz blühreif wird, erfolgen nur noch Streckungs- und Entfaltungsbewegungen. Die einzelnen entwicklungsgeschichtlichen Phasen des Wickels sind nicht zu verfolgen, ganz wie bei einem Boragoid. Es liegt eine kongenitale Wickelbildung vor.

Ehe wir auf diese Dinge eingehen, soll über die Diskussion, die der Begriff des Boragoids in der Literatur hervorgerufen hat, ein kurzer Überblick gegeben werden. SCHUMANN (43) führte den Begriff „Boragoid" für den Blütenstand der Boraginaceen ein und deutet ihn als eine echte Wickel mit stark dorsiventraler Ausbildung.

Ferner weist er auf die schnelle Entwicklung der Blütenanlagen hin. Die vergleichenden Morphologen A. P. DE CANDOLLE (5), L. und A. BRAVAIS (4), WYDLER (52), EICHLER (11), WARMING (50), ČELAKOVSKÝ (8), MUTH (34), TROLL (48 u. 49) u. a. betrachten die Wickel der Boraginaceen als Spezialfälle echter Wickel. Namentlich in GOEBEL (16) entstand dieser Auffassung ein Gegner, wozu man die Literatur bei ČELAKOVSKÝ (8 u. 9), SCHUMANN (43) und GOEBEL (16—18, 20 u. 21) vergleiche.

GOEBEL stellte die Forderung, die Wickelnatur des Boragoids entwicklungsgeschichtlich nachzuweisen. Da aber während der Entwicklungsgeschichte die einzelnen Phasen nicht hervortreten, sondern in einem an monopodiale Verhältnisse erinnernden Sinn verläuft, verneint er zunächst die Wickelnatur. Erst später [s. auch TROLL in HEGI (24)] gibt er zu, daß sein Standpunkt einseitig entwicklungsgeschichtlich war und auf Grund vergleichend morphologischer Betrachtungen das Boragoid von der Wickel abzuleiten sei.

Vor allem trat ČELAKOVSKÝ (8 u. 9) dieser Meinung GOEBELS entgegen. Er zeigte, daß bei den Boraginaceen cymöse Blütenstände vorliegen, die uns auf Grund von kongenitalen Vorgängen in Form eines Monopodiums entgegentreten. Auf die Forderung der Entwicklungsmechanik ontogenetische Beweise zu bringen, schreibt ČELAKOVSKÝ (9): „... ich bedauere, daß dies nicht möglich ist, weil eben hier ein kongenitaler oder idealer Vorgang vorliegt, der nun einmal nie durch die Entwicklungsgeschichte nachgewiesen werden kann, daß diese vielmehr in der Regel entgegenzustehen scheint."

Wir haben hier wiederum ein schönes Beispiel dafür, daß man bei Klärung morphologischer Probleme, wie auch anderer botanischer Fragen, nie einseitig verfahren darf, wozu man auch bei TROLL (48) und KAUSSMANN (25) nachlese. Von entwicklungsgeschichtlicher Seite kann nicht immer die Lösung morphologischer Probleme gebracht werden, sondern der Vergleich der fertigen Zustände bringt in diesem Falle entscheidende Klärung.

Nach dem Vorhergehenden können wir nun die Infloreszenzverhältnisse bei *Schizocapsa plantaginea* verstehen. Ein isolierter Wickelast (Abb. 2*F*) zeigt, daß alle Blüten (*II—VII*) ziemlich gleichzeitig entwickelt werden. Ein Vergleich mit *Symphytum officinale* L. (Abb. 2*E*), einem ausgesprochenen Boragoid, läßt die engen Beziehungen zwischen beiden Blütenständen klar hervortreten. Die Knospenlage der kongenitalen Wickel, namentlich bei den Boraginaceen und den Hydrophyllaceen, zeichnet sich dadurch aus, daß ihr Ende eingerollt ist. So verhält sich auch *Symphytum*. *Schizocapsa plantaginea* bildet fast gerade Wickel, wie man aus Längsschnitten (Abb. 2*B* und *C*) und dem Blütenstand (Abb. 2*A*) entnehmen kann. Die Krümmung der Wickelachse kann verschieden groß sein (*B* und *C*), jedoch nach außen hin fällt sie nicht ins Gewicht. Nach GOEBEL (20) gibt es derartige Fälle auch bei den Convolvulaceen, von denen er *Mina lobata* LLAV. und LEX. als Beispiel anführt. Ebensowenig sind die Wickel der Labiaten und Scrophulariaceen eingerollt. Eine ausgesprochene Einrollung erfolgt dann, wenn die sympodiale Wickelachse stark dorsiventral ist.

Untersucht man bei *Schizocapsa plantaginea* die Verhältnisse am Vegetationskegel der Wickel (Abb. 2 *D*), so sieht man, daß die Blütenanlagen seitlich ausgegliedert werden, und die Wickelachse scheinbar monopodialen Charakter trägt. Bei den Boraginaceen sind diese Dinge noch ausgeprägter, so daß GOEBEL (16) früher glaubte, dorsiventrale Trauben vor sich zu haben. Besonders gut lassen diese seitliche Ausgliederung die jungen Blütenanlagen *VIII* und *IX* (Abb. 2 *D*) und

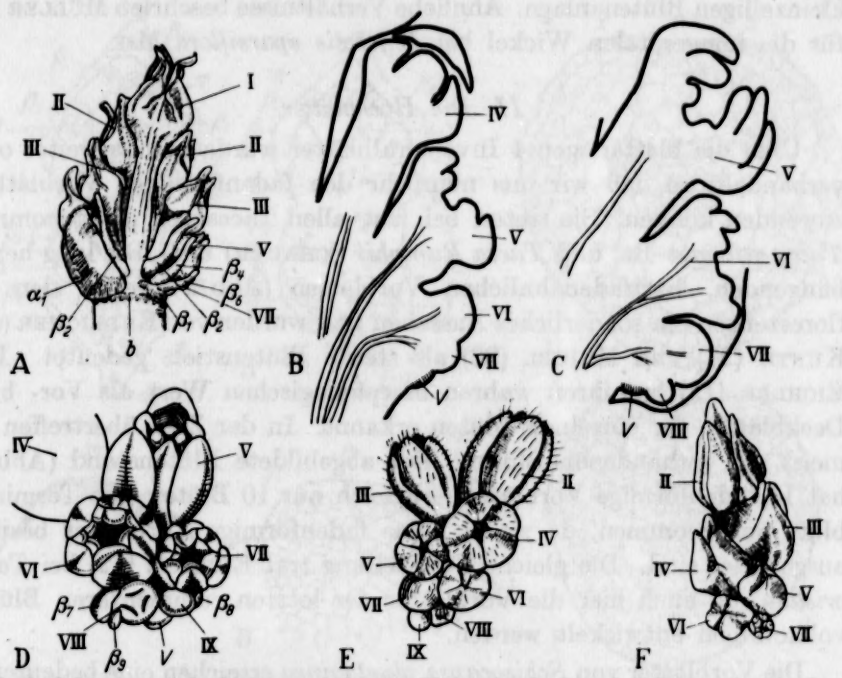


Abb. 2. *Schizocapsa plantaginea*. *A* Junger Blütenstand, *B* und *C* Längsschnitte durch einen Wickelast, *D* und *F* junge Wickeläste (*b* und β_i Narben abpräparierter Involucralblätter), *E Symphytum officinale*, junger Wickelast.

Abb. 3 *B*, *C* und *D* erkennen. Im Zusammenhang damit sind auch die fadenförmigen Vorblätter in zwei Reihen angeordnet (Abb. 2 *A* und Abb. 3 *A* und *B*). Das gleiche Verhalten schildert LIMPRICHT (29 und 30) für *Tacca pinnatifida* J. und G. FORST. und *Tacca artocarpifolia* SEEM., die mehrere Wickeläste tragen, wenn er schreibt: „Die einzelnen Wickel werden durch die Bartfäden voneinander getrennt; daher stehen diese zwischen den Blütenstielen." Aus vergleichend morphologischen Gründen handelt es sich also auch hier um kongenitale Wickelbildung, bei der die einzelnen Phasen im Entwicklungsgang nicht zu erkennen sind.

Bei *Tacca cristata* werden die 4—7 zuerst ausgebildeten Blüten blühreif, wie EICHLER (12) nachweisen konnte. Es folgen weitere 2—3 rudimentäre Blüten. Ganz ähnlich verhält sich *Schizocapsa plantaginea*, wo die zuletzt angelegten Blüten ebenfalls unentwickelt bleiben (Abb. 2 *B*, *VI*,

VII und Abb. 2*C*, *VII*, *VIII*). Ihr histogenetisches Bild zeigt, daß die Blütenvegetationspunkte (Abb. 3*D*, *Bl* und Abb. 4*F*, *VII*) aus meristematischem Gewebe bestehen, in die eine Leitbündelanlage (P_c) hineinreicht. Der Vegetationspunkt der Wickel (*V* in Abb. 3*C* und *D*, und Abb. 4, *F*) verkümmert, was das großzellige Gewebe erkennen läßt. Es ist bereits in den Dauerzustand übergegangen. Man beachte ferner die Abgrenzung zu der zuletzt ausgegliederten noch meristematischen, kleinzelligen Blütenanlage. Ähnliche Verhältnisse beschrieb MÜLLER (33) für die kongenitalen Wickel bei *Myosotis sparsiflora* MIK.

II. Die Hochblätter.

Über die blattartigen 4 Involucralblätter wurde bereits weiter oben verhandelt, so daß wir uns nunmehr den fadenförmigen Vorblättern zuwenden können. Sie treten bei fast allen Taccaceen (ausgenommen *Tacca palmata* BL. und *Tacca Rumphii* SCHAUER) auf. Die lang herabhängenden, bartfädenähnlichen Vorblätter (Abb. 1) geben den Infloreszenzen ein sonderliches Aussehen und wurden von ENDLICHER (13), KUNTH (27) und MIQUEL (32) als sterile Blütenstiele gedeutet. Erst EICHLER (12) hat ihren wahren morphologischen Wert als Vor- bzw. Deckblätter der einzelnen Blüten erkannt. In der Zahl übertreffen sie meist die vorhandenen Blüten. Der abgebildete Blütenstand (Abb. 1) hat 14 fadenförmige Vorblätter, obgleich nur 10 Blüten (die Terminalblüte ausgenommen, da sie ja keine fadenförmige Vorblätter besitzt) ausgebildet sind. Die gleiche Feststellung traf EICHLER (12) bei *Tacca cristata*, da auch hier die Vorblätter der letzten rudimentären Blüten vollkommen entwickelt werden.

Die Vorblätter von *Schizocapsa plantaginea* erreichen eine bedeutende Länge und weisen auf ihrer morphologischen Oberseite eine Rinne auf (Abb. 3*E* und *F*). Ihr Leitbündelverlauf zeigt das gleiche Verhalten, wie es LIMPRICHT (29) für *Tacca macrantha* LIMPR. geschildert hat. Diametral gegenüber der rinnigen Oberseite liegt ein größeres Bündel (P_c). In den basalen Teilen der Vorblätter schließen sich diesen seitlich zwei kleinere Bündel (in *E*) an (vgl. auch Abb. 3*A*, β_2, β_3). Spitzenwärts rücken die einzelnen Stränge immer dichter aneinander und verschmelzen schließlich, so daß nur noch ein großes Bündel zu sehen ist (Abb. 3*A*, β_5, β_4). Was den histogenetischen Verlauf betrifft, so kann man ein ausgesprochenes Dickenwachstum (Abb. 3*F*) feststellen, das anfangs allseitig von der subepidermalen Zellschicht besorgt wird. Später jedoch erfolgt eine Lokalisation auf die adaxiale Seite; es kommt ein ventral gelegenes Meristem (V_m) zustande, das TROLL (48) Ventralmeristem nannte. Diese Art des Dickenwachstums ist für die axilen Teile der Blattorgane charakteristisch, wie die Studien von BOUYGUES (3), TROLL (48), KAUSSMANN (25) u. a. erwiesen haben. Die Entwicklung

der Blattränder (Abb. 3 *E* und *F*, *x x*) ist bei den fadenförmigen Vorblättern von *Schizocapsa plantaginea* gehemmt. Subepidermale Randzellen, wie sie nach AVERY (1), FOSTER (14), KAUSSMANN (25 und 26) und NOACK (35) die Ausbildung der Lamina besorgen, werden überhaupt nicht angelegt.

Wir wissen, daß bei der pleuroplasten Blattentwicklung, wozu man bei AVERY (1) und PRANTL (40) vergleiche, die Blattachse gegenüber der

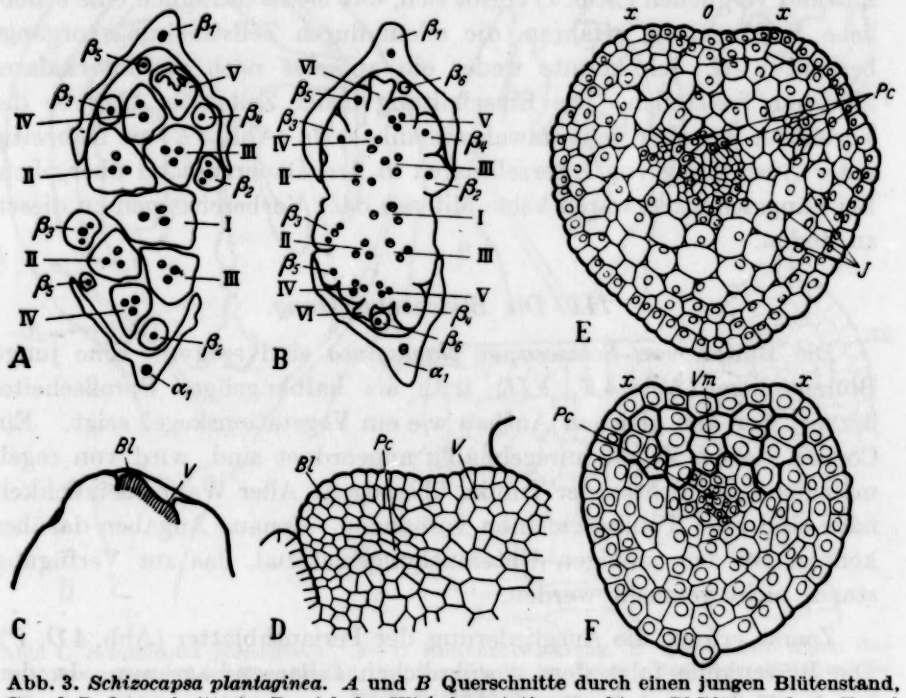


Abb. 3. *Schizocapsa plantaginea*. *A* und *B* Querschnitte durch einen jungen Blütenstand, *C* und *D* Querschnitte im Bereich des Wickelvegetationspunktes. *Bl* Blütenanlage, *E* und *F* fadenförmige Vorblätter quer. *xx* Blattränder.

seitlichen Ausbreitung gefördert ist. Junge Primordien bestehen nur aus dem Rippenteil, wie aus Untersuchungen von AVERY (1) an *Nicotiana Tabacum* L. entnommen werden kann. Stellt man sich vor, daß das Blatt von *Nicotiana* eine Entwicklungshemmung erfährt und auf dem Primordialstadium stehen bleibt, dann erhalten wir ein fadenförmiges, zylindrisches Organ mit nur geringer Oberseite. Solche gehemmte Stadien stellen die fadenförmigen Vorblätter von *Schizocapsa plantaginea* dar. Dieser Gedankengang kann empirisch belegt werden durch eine Übergangsform, die LIMPRICHT (29) bei *Tacca pinnatifida* subsp. *minor* LIMPR. gefunden hat. Hier zeigte sich am basalen Ende des „Bartfadens“* eine blattartige Verbreiterung, während der obere Teil fadenförmig ausgebildet war. Die Anlage zur randlichen Ausdehnung ist

* Der Ausdruck „Bartfaden“ ist von EICHLER (12) zuerst gebraucht worden.

durchaus vorhanden, aber im Normalfall restlos gehemmt. Auf diese Weise kommt die stielartige Form der Vorblätter zustande.

Das Gewebe der Vorblätter geht sehr bald in den Dauerzustand über, die Zellen vergrößern sich, runden sich ab, und es entstehen zahlreiche Interzellularen (Abb. 3*E*, *J*). Außerdem sind überall in dem Gewebe Kristalldrusen verstreut. In diesem Zustand befinden sich bereits die Bartfäden, wie sie in Abb. 2*A* dargestellt sind. Mit dem fertigen Zustand verglichen (Abb. 1) ergibt sich, daß sie nachträglich eine erhebliche Verlängerung erfahren, die allein durch Zellstreckungsvorgänge bewirkt wird. Ich konnte weder ein apikales noch ein interkalares Meristem feststellen. Die Einschaltung neuer Zellen im Gewebe der Vorblätter ist aber sehr unwahrscheinlich, da (Abb. 3*E*) sie frühzeitig unter Ausbildung von Interzellularen in den Dauerzustand übergehen. Bei Längsschnitten waren keine Mitosen oder Vorbereitungen zu diesen zu finden.

III. Die Blütenentwicklung.

Die Blüten von *Schizocapsa plantaginea* sind epigyn. Eine junge Blütenanlage (Abb. 4*F*, *VII*) tritt als halbkugeliger Sproßscheitel hervor, der den gleichen Aufbau wie ein Vegetationskegel zeigt. Ein Corpus, dessen Zellen unregelmäßig angeordnet sind, wird von regelmäßigen Zellschichten der Tunika überzogen. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind zwei Tunikaschichten vorhanden. Genaue Angaben darüber können bei dem wenigen Untersuchungsmaterial, das zur Verfügung stand, nicht gemacht werden.

Zuerst erfolgt die Ausgliederung der Perianthblätter (Abb. 4*D*, *P*). Die Blütenhülle folgt dem gewöhnlichen Liliaceendiagramm. In den basalen Teilen sind die Perigonblätter etwas verwachsen (Abb. 1). Die Blüten von *Schizocapsa plantaginea* sind leicht dorsiventral, was sich bei den Perianthblättern dadurch bemerkbar macht, daß an jeder Blüte verschiedene Entwicklungsstadien zu finden sind. Wie wir von PAYER (39) wissen, ist dies im Bereich der Blüte eine ziemlich häufige Erscheinung. Als nächstes werden die 6 Staubblätter (Abb. 4*C* und *B*, S_t) ausgegliedert, deren Filamente den Perianthblättern angewachsen sind. Gleichzeitig erfolgt die Anlegung der 3 Karpelle (Abb. 4*C*, *B*). Die Untersuchungen ČELAKOVSKÝs (7), GOEBELs (15) und LEINFELLNERs (28) haben es wahrscheinlich gemacht, daß der unterständige Fruchtknoten einen Achsenbecher darstellt, dessen Innenseite mit den kongenital verwachsenen Fruchtblättern ausgekleidet ist. In der Mitte der Fruchtknotenhöhlung ist eine rundliche Kuppe zu sehen (Abb. 4*C*, $Q + Q$), von der man vermuten kann, daß sie Blattnatur besitzt. Wahrscheinlich handelt es sich um die kongenital verwachsenen Querzonen der beiden Karpelle (*F*), die aber in der Entwicklung stark gehemmt sind.

Die Griffeläste der Fruchtblätter wachsen heran (Abb. 4 *B* und *A*), und die Samenanlagen werden angelegt.

Wie bei den anderen Taccaceen lassen die Staubblätter auch hier eine kapuzenartige Gestalt erkennen, sind dithezisch und intrors. Das Filament ist petaloid entwickelt und zeigt, wie auch die Perianthblätter, ein Randwachstum, das durch subepidermale Initialzellen vermittelt wird, so wie es KAUSSMANN (25) für die gleichen Organe anderer Pflanzen

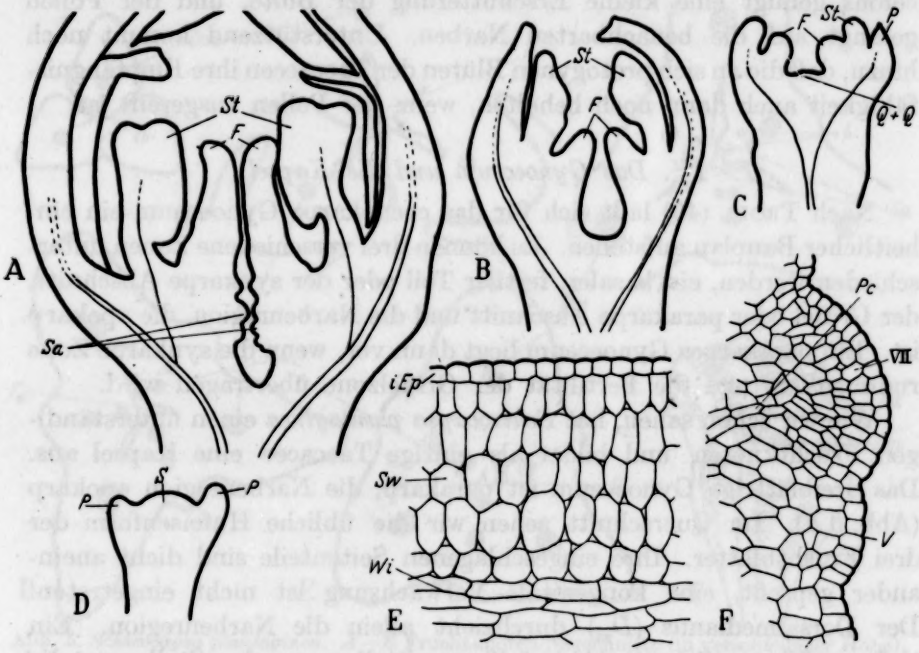


Abb. 4. *Schizocapsa plantaginea*. *A—D* Blütenentwicklung, *E* Querschnitt durch das Entfaltungsgewebe der Kapselwand, *F* Längsschnitt im Bereich des Vegetationspunktes eines Wickelastes.

nachweisen konnte. In den Perianthblättern und den Blütenstielen sind ebenfalls Rhaphiden verstreut.

Von der Bestäubung kann folgendes gesagt werden: DELPINO (10) stellte als erster Vermutungen über die Bestäubung bei *Tacca cristata* auf. Er glaubt, daß kleine Fliegen, wie sie etwa die Blüten von *Arum* und *Aristolochia* besuchen, auch bei *T. cristata* die Bestäubung vermitteln. LOEW (31) schreibt von sogenannten „Herbergseinrichtungen" bei *T. cristata* und *T. integrifolia* KER-GAWL. Kleine Insekten finden in den zahlreichen Schlupfwinkeln der Blüten Verstecke, aus denen sie jeder Zeit wieder ins Freie gelangen können. Auf diese Weise soll die Befruchtung bewirkt werden. LIMPRICHT (29) stellte auf Grund von längeren Beobachtungen fest, daß in der Blüte von *Tacca macrantha* nie Insekten zu finden seien. Meist tritt bei dieser Pflanze Selbstbestäubung ein, da die Antheren die Narbe fast berühren, und eine schwache Bewegung der Blüte genügt, um die Bestäubung zu vollziehen.

Ähnliche Verhältnisse ergaben die eigenen Studien an *Schizocapsa plantaginea*. Blühende Pflanzen, die innerhalb des Warmhauses in einem besonderen verschlossenen Glaskasten standen, bestäubten sich offenbar selbst, und alle reifenden Kapseln brachten Samen hervor. Die Möglichkeit einer Selbstbestäubung ist durchaus gegeben, da eine fertig entwickelte Blüte nur geringe Abstände zwischen den Narben und den Antheren der Staubblätter erkennen läßt. Bei der Reife des Androeceums genügt eine kleine Erschütterung der Blüte, und der Pollen gelangt auf die benachbarten Narben. Unterstützend kommt noch hinzu, daß die an sich protogynen Blüten der Taccaceen ihre Empfängnisfähigkeit auch dann noch behalten, wenn der Pollen ausgereift ist.

IV. Das Gynoeceum und die Kapsel.

Nach TROLL (45) läßt sich für das coenokarpe Gynoeceum ein einheitlicher Bauplan aufstellen. Es können drei verschiedene Zonen unterschieden werden, ein basaler, fertiler Teil oder der synkarpe Abschnitt, der Griffel oder parakarpe Abschnitt und die Narbenregion, die apokarp ist. Ein parakarpes Gynoeceum liegt dann vor, wenn die synkarpe Zone rudimentiert und die Fertilität der Griffelzone übertragen wird.

Wie wir schon sahen, hat *Schizocapsa plantaginea* einen unterständigen Fruchtknoten und bildet als einzige Taccacee eine Kapsel aus. Das dreiblättrige Gynoeceum ist parakarp, die Narbenregion apokarp (Abb. 5 *A*). Im Querschnitt sehen wir die übliche Hufeisenform der drei Fruchtblätter. Ihre eingeschlagenen Seitenteile sind dicht aneinander gepreßt, eine kongenitale Verwachsung ist nicht eingetreten. Der Dorsalmedianus (D_m) durchzieht allein die Narbenregion. Ein tiefer geführter Schnitt (Abb. 5 *B*) unmittelbar an der Stelle, wo die Fruchtblätter sich mit dem Achsenbecher vereinigen, zeigt, daß sich an ihrer Gestalt nichts ändert. Ein Hinweis auf diese Verhältnisse gab bereits LEINFELLNER (28). Die Fruchtblatträner (F_r) bleiben, wie in der Narbenregion, an ihrer Berührungsstelle erhalten. Die enge Verbindung der Karpelle erfolgt durch die Blütenachse. Der Fruchtknoten ist in diesem Abschnitt pseudocoenokarp, worüber man bei TROLL (46) vergleiche. Auch hier ist der Dorsalmedianus (D_m) noch allein vorhanden, was mit einer Reduktion der lateralen Seitenstränge zusammenhängt, wie sie SCHAEPPI und STEINDL (42) bei den Karpellen gewisser Rosoideen nachgewiesen haben. Die seitlichen Stränge (L) reichen nicht bis zur Basis der Griffeläste hinauf. In der fertilen Zone des parakarpen Gynoeceums (Abb. 5 *C*) ist der Spalt zwischen den einzelnen Karpellen verschwunden. Damit ist wahrscheinlich gemacht, daß eine kongenitale Verwachsung zwischen den einzelnen Fruchtblättern stattgefunden hat. In diesem Bereich durchziehen neben dem Dorsalmedianus (D_m) die Seitennerven (L) die Fruchtblätter. Wir haben die fertile Zone vor uns,

in der man deutlich die Samenanlagen (S_a) erkennen kann (vgl. auch Abb. 4*A*). Die schwach entwickelten Plazenten sitzen an den Rändern der Fruchtblätter, sind also nach TROLL (46) marginal lateral angeheftet. Aus noch tiefer geführten Schnitten (Abb. 5*D* und *E*) durch die basale Zone des Gynoeceums entnimmt man, daß eine Fruchtblatthöhle (F_H) vorhanden ist, die sich unten verschmälert und schließlich endet. Dieser Abschnitt ist steril, die Laterales verschmelzen ($L + L$), und von einem

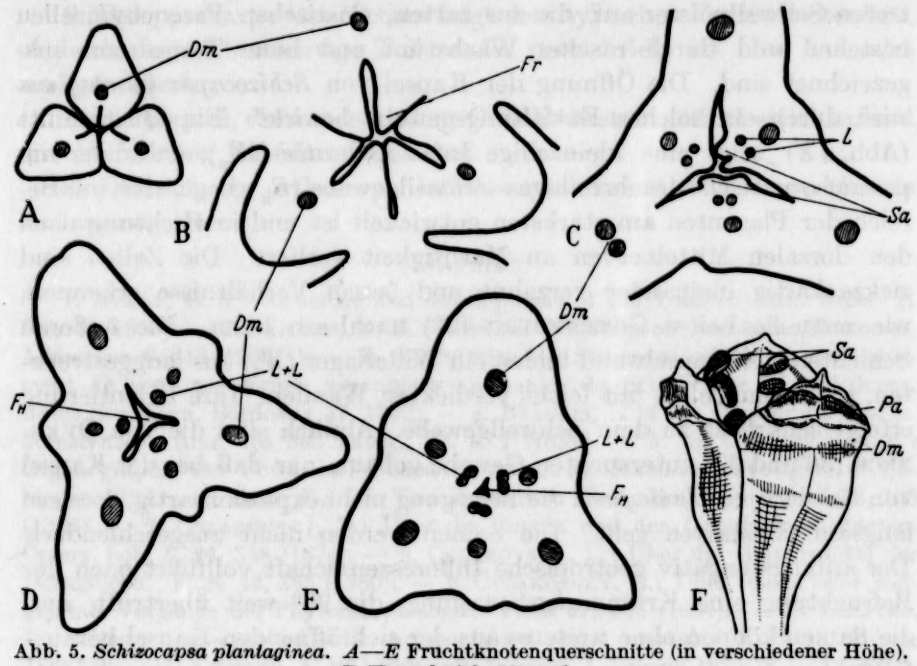


Abb. 5. *Schizocapsa plantaginea*. *A*—*E* Fruchtknotenquerschnitte (in verschiedener Höhe). *F* Kapsel sich öffnend.

Rest des synkarpen Teiles ist nichts wahrzunehmen. TROLL (45) hat darauf hingewiesen, daß man in den meisten Fällen beim parakarpen Gynoeceum Reste der synkarpen Basis nicht mehr vorfinden kann. Der Vergleich mit Übergängen berechtigt dazu, typologische Zusammenhänge anzunehmen. Kommt der schlauchartige Teil des Fruchtknotens in Wegfall, ein Zustand, der sehr häufig anzutreffen ist, dann erhalten wir das parakarpe Gynoeceum von *Schizocapsa plantaginea*. Wie wir von LEINFELLNER (28) wissen, ist es wegen des allmählichen Überganges oft nicht möglich, festzustellen, ob peltate Karpelle mit stark gehemmter Querzone oder epeltate vorliegen. Das gleiche gilt in unserem Falle.

Da HANCE (23) die Kapsel von *Schizocapsa* nicht näher beschrieben hat, soll es an dieser Stelle geschehen. Die reife grüne Kapsel besteht aus lebendem Gewebe und ist an der Spitze abgeflacht. Auf der Kapseloberseite sind die Reste des Perianths (P_a in Abb. 5*F*) als bräunliche Fetzen zu erkennen. Die Öffnung der Kapsel erfolgt loculicid, also im

Bereich der dorsalen Mittelnerven (Abb. 5*F*). Die Samen (S_a) sitzen auf flachen Plazentarwülsten. Abb. 5*F* zeigt die Anfangsphase der Kapselöffnung. Im weiteren Verlauf krümmen sich die 3 Klappen um fast 180°, bis sich die oberen und unteren Teile der Außenwände berühren. Wie GOEBEL (19), v. GUTTENBERG (22) u. a. nachgewiesen haben, gibt es bei lebenden Geweben Entfaltungsgewebe, die eine einmalige, allmählich erfolgende Bewegung durchzuführen vermögen. Es treten Schwellpolster auf, die aus zarten, elastischen Parenchymzellen bestehen und durch rasches Wachstum und hohe Turgeszenz ausgezeichnet sind. Die Öffnung der Kapsel von *Schizocapsa plantaginea* wird durch ein solches Entfaltungsgewebe bewirkt. Ein Querschnitt (Abb. 4*E*) zeigt eine kleinzellige Innenepidermis (iE_p), unter der ein parenchymatisches mehrreihiges Schwellgewebe (S_w) liegt, das im Bereich der Plazenten am stärksten entwickelt ist und in Richtung nach den dorsalen Mittelnerven an Mächtigkeit verliert. Die Zellen sind zickzackartig ineinander verzahnt und lassen Verhältnisse erkennen, wie man sie bei v. GUTTENBERG (22) nachlesen kann. Die äußeren Schichten der Kapselwand bilden ein Widerlager (W_i) aus langgestreckten, schmalen Zellen mit leicht verdickten Wänden. Ihre Orientierung erfolgt senkrecht zu dem Schwellgewebe. Ähnlich sind die von OVERBECK (36 und 37) untersuchten Gewebe gebaut, nur daß bei der Kapsel von *Schizocapsa plantaginea* die Bewegung nicht explosionsartig, sondern langsam vonstatten geht. Die Samen werden nicht ausgeschleudert. Der anfangs negativ geotropische Infloreszenzschaft vollführt nach der Befruchtung eine Krümmungsbewegung, die 90° weit übertrifft, und die Samen können ohne weiteres aus der sich öffnenden Kapsel herausfallen.

Die gleichen Krümmungsbewegungen der anfänglich orthotropen Infloreszenzachse hat WEBER (51) bei *Eichhornia crassipes* (MART.) SOLMS näher untersucht und ermitteln können, daß für die postflorale Krümmung in der Hauptsache Zellstreckungen verantwortlich zu machen sind. Aller Wahrscheinlichkeit nach liegen bei der Blütenstandsachse von *Schizocapsa plantaginea* ähnliche Vorgänge zugrunde, worüber noch nähere Untersuchungen anzustellen wären.

Zusammenfassung.

1. Die Infloreszenz von *Schizocapsa plantaginea* HANCE wird beschrieben. Die beiden Wickeläste stellen kongenitale Wickel dar, deren Vegetationspunkte verkümmern.

2. Eine Terminalblüte wird ausgebildet, daher sind die beiden „Vorblätter" nicht als solche aufzufassen, sondern Involucralblätter.

3. Die fadenförmige Gestalt der Vorblätter ist als Folge einer Entwicklungshemmung bei pleuroplaster Blattausbildung anzusehen. Ein

Ventralmeristem besorgt das Dickenwachstum. Die endgültige Länge der Vorblätter wird durch ein ausgeprägtes Streckungswachstum erzielt.

4. Die Blüte zeigt die typische Entwicklung einer epigynen Blüte, wobei das parakarpe Gynoeceum mit dem Achsenbecher kongenital verwächst. Die Breitenentwicklung der Perianthblätter und der petaloiden Filamente wird durch subepidermale Initialen bewirkt.

5. Selbstbestäubung wurde festgestellt.

6. Das parakarpe Gynoeceum folgt dem typischen Fruchtknotenbau, obgleich der schlauchartige Teil restlos unterdrückt ist. Die Laterales sind verkürzt.

7. Die Kapsel, die aus lebendem Gewebe besteht, öffnet sich loculicid mit Hilfe eines Entfaltungsgewebes.

8. Die anfangs orthotrope Infloreszenzachse führt eine postflorale Krümmung durch.

Literatur.

1. Avery, G. S.: Structure and development of the Tobacco leaf. Amer. J. Bot. **20** (1933). — 2. Baillon, M. H.: Note sur l'organogénie florale des *Taccacées*. Adansonia **6**, 243 (1865/66). — 3. Bouygues, H.: Structure, origine et développement de certaines formes vasculaires anormales du pétiole des Dicotylédones. Actes Soc. Linn. Bordeaux **57** (1902). — 4. Bravais, L. et A.: Disposition des inflorescences. Ann. des Sci. natur., II. s. **7** (1839). — 5. de Candolle, A. P.: Organographie der Gewächse: Übersetzt von C. Fr. Meisner. Stuttgart u. Tübingen 1828. — 6. Čejp, K.: Die Terminalblüten. Beih. Bot. Cbl. 1. Abt. **43**, 106 (1926). — 7. Čelakovský, L.: Über die Cupula und den Cupularfruchtknoten. Österr. bot. Z. **24**, 358 (1874). — 8. Čelakovský, L.: Über die Blütenwickel der Boragineen. Flora **43**, 355 (1880). — 9. Čelakovský, L.: Über ideale oder congenitale Vorgänge der Phytomorphologie. Flora **67**, 435 (1884). — 10. Delpino, F.: Ulteriori osservazioni sulla dicogamia nel regno vegetale. I. S. 13. Milano 1868/69. — 11. Eichler, A. W.: Blütendiagramme. I. Leipzig 1875/78. — 12. Eichler, A. W.: Über die Infloreszenz von *Tacca cristata* Jack. Verh. bot. Ver. Prov. Brandenburg **21**, 105 (1879). — 13. Endlicher, St.: Gen. plant. I. S. 159. Vindobon. 1836. — 14. Foster, A. S.: A histogenetic study of foliar determination in *Carya Buckleyi* var. *arkansana*. Amer. J. Bot. **22**, 98 (1935). — 15. Goebel, K.: Vergleichende Entwicklungsgeschichte der Pflanzenorgane. In Schenks Handbuch der Botanik, Bd. 3. 1884. — 16. Goebel, K.: Über die Verzweigung dorsiventraler Sprosse. Arb. bot. Inst. Würzburg **2**, 353 (1882). — 17. Goebel, K.: Besprechungen von K. Schumann, Untersuchungen über das Boragoid. Flora (Marburg) **72**, 82 (1889). — 18. Goebel, K.: Morphologische und biologische Bemerkungen, 14. zur Entwicklungsgeschichte des Boragoids. Flora (Marburg) **91**, 255 (1902). — 19. Goebel, K.: Die Entfaltungsbewegungen der Pflanzen und deren teleologische Deutung. Erg.-Bd. zur Organographie der Pflanzen. Jena 1924. — 20. Goebel, K.: Blütenbildung und Sproßgestaltung. Jena 1931. — 21. Goebel, K.: Organographie der Pflanzen, 3. Aufl., Bd. I, S. 111. Jena 1933. — 22. Guttenberg, H. v.: Die Bewegungsgewebe. In Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. 5, 1. Abt., Teil 2, S. 165. Berlin 1926. — 23. Hance, H. F.: On the natural order *Taccaceae* in Trim. J. Bot. **19**, 292 (1881). — 24. Hegi, G.: Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Bd. 5, Teil 3. — 25. Kaussmann, B.: Vergleichende Untersuchungen über die Blattnatur der Kelch-, Blumen- und Staubblätter. Bot. Archiv **42**, 1941. — 26. Kaussmann, B.: Histogenetische Untersuchungen an Flachsprossen. Bot.

Archiv **43** (1942). — 27. Kunth: Enum. plant., Bd. 5, S. 458. Stuttgart u. Tübingen 1850. — 28. Leinfellner, W.: Über den unterständigen Fruchtknoten und einige Bemerkungen über den Bauplan des verwachsenblättrigen Gynoeceums an sich. Bot. Archiv **42**, 1 (1941). — 29. Limpricht, W.: Beitrag zur Kenntnis der Taccaceen. Diss. Breslau 1902. — 30. Limpricht, W.: *Taccaceae*. In: Das Pflanzenreich, Bd. 4, 42. 1928. — 31. Loew, E.: Einführung in die Blütenbiologie, S. 181. Berlin 1895. — 32. Miquel: Flor. Ind. Batav. **3**, 577 (1855). — 33. Müller, W.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Infloreszenzen der Boragineen und Solaneen. Flora (Marburg) **94**, 385 (1905). — 34. Muth, Fr.: Untersuchungen über die Entwicklung der Infloreszenzen und Blüten, sowie über die angewachsenen Achselsprosse von *Symphytum officinale*. Flora (Marburg) **91**, 75 (1902). — 35. Noack, K. L.: Entwicklungsmechanische Studien an panaschierten Pelargonien. Zugleich ein Beitrag zur Theorie der Periklinalchimären. Jb. Bot. **61** (1922). — 36. Overbeck, F.: Studien an den Turgeszenz-Schleudermechanismen von *Dorstenia contrayerva* L. und *Impatiens parviflora* D. C. Jb. Bot. **63**, 467 (1924). — 37. Overbeck, F.: Zur Kenntnis des Mechanismus der Samenausschleuderung von *Oxalis*. Jb. Bot. **62**, 258 (1923). — 38. Pax, F.: *Taccaceen*. In Engler-Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien, Bd. 15a. 1930. — 39. Payer, J. B.: Traitée d'organogénie comparée de la fleur. Paris 1857. — 40. Prantl, K.: Studien über Wachstum, Verzweigung und Nervatur der Laubblätter, insbesondere der Dicotylen. Ber. dtsch. bot. Ges. **1** (1883). — 41. Quéva, Ch.: Recherches sur l'anatomie de l'appareil végétatif des *Taccacées* et des *Dioscorées*. Lille 1894. — 42. Schaeppi, H., u. F. Steindl: Vergleichend-morphologische Untersuchungen am Gynoeceum der *Rosoideen*. Ber. schweiz. bot. Ges. **60** (1950). — 43. Schumann, K.: Untersuchungen über das Boragoid. Ber. dtsch. bot. Ges. **7**, 53 (1889). — 44. Schultes, A., u. H.: Syst. veget. **7a** (1829). — 45. Troll, W.: Zur Auffassung des parakarpen Gynaeceums und des coenokarpen Gynaeceums überhaupt. Planta (Berl.) **6** (1928). — 46. Troll, W.: Beiträge zur Morphologie des Gynaeceums I. Über das Gynaeceum der *Hydrocharitaceen*. Planta (Berl.) **14** (1931). — 47. Troll, W.: Morphologie der schildförmigen Blätter. Planta (Berl.) **17** (1932). — 48. Troll, W.: Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. 1. Teil 1 u. 2. Berlin 1937 u. 1939. — 49. Troll, W.: Gestalt und Urbild. Gesammelte Aufsätze zu Grundfragen der organischen Morphologie. In: Die Gestalt, H. 2. 1940. — 50. Warming, E.: Forgreningsforhold hos Fanerogamerne. Kgl. danske Vidensk. Selsk. Skr. **1872**. — 51. Weber, H.: Morphologische und anatomische Studien über *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. Akad. Wiss. u. Lit., Math.-naturwiss. Kl. **6** (1950). — 52. Wydler, H.: Zur Morphologie hauptsächlich der dichotomen Blütenstände. Jb. Bot. **11**, 313 (1878).

Dr. B. Kaussmann, Rostock, Doberanerstr. 143, Botan. Institut der Univ.

Planta, Bd. 39, S. 105—125 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

DAS HEMMSTOFF-WUCHSSTOFFSYSTEM DES MAISSKUTELLUMS.

Von

RICHARD POHL.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Dezember 1950.)

Einleitung.

Die Wuchsstofforschung hat in den letzten Jahren zahlreiche beweiskräftige Argumente dafür erbracht, daß eine Wachstumsregulation der Pflanze allein durch Wuchsstoff auf der einen und Nährstoffe auf der anderen Seite, wie es WENT (1928) in seiner klassischen Arbeit über „Wuchsstoff und Wachstum" dargelegt hat, nicht ausreicht, um die Steuerung der wuchsstoffabhängigen Entwicklungsprozesse der Pflanze zu erklären. Wie man für den tierischen und menschlichen Organismus zahlreiche Hormone nachweisen konnte, die gegensinnig arbeiten, wobei ein Hormon die Wirkung des anderen aufzuheben vermag, so hat man auch für die Pflanze derartige Antihormone postuliert und nach ihnen geforscht. Man wurde dabei auf spezifische Stoffe in der Pflanze aufmerksam, die das Streckungswachstum hemmen, und belegte sie mit dem Namen *Hemmstoffe*. Da nun die Wachstumsprozesse von vielen Faktoren wie Wasseraufnahme, Nährstoffaufnahme, Permeabilität und Atmung abhängig sind, fallen naturgemäß unter den Begriff *Hemmstoffe* zahlreiche Substanzen, sofern sie nur einen der vorgenannten Faktoren für das Streckungswachstum hemmend beeinflussen. Einen spezifisch hormonellen Charakter kann man einem solchen Hemmstoff nur dann zuschreiben, wenn er nachweislich regulativ in die Entwicklungsprozesse der Pflanze eingreift. Dieser Beweis steht aber für die meisten der bisher analysierten Hemmstoffe noch aus.

Dagegen konnten dem Hemmstoff des Skutellums und der Koleoptile (VOSS 1939, FUNKE und SÖDING 1948) sowie dem der Kartoffelknolle (HEMBERG 1947) eindeutig regulative Wirkungen nachgewiesen werden. Die Natur dieser Hemmstoffe und ihr Zusammenwirken mit dem Wuchsstoff der Pflanze ist noch keineswegs geklärt. Vorliegende Versuche sollen zur Klärung dieser Fragen einen Beitrag liefern[1]. Sie stellen eine Fortsetzung unserer in Köln 1948 begonnenen Versuche dar, über die in einer kurzen Mitteilung (POHL und TEGETHOFF 1949) bereits berichtet wurde.

[1] Ich danke der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft, die die Durchführung dieser Versuche durch Gerätgestellung wesentlich unterstützte.

1. Die Gewinnung von Hemmstoff und seine Isolierung vom aktiven Wuchsstoff durch Elektrodialyse.

Die zur Zeit gebräuchlichen Methoden zur Gewinnung von Hemmstoff aus Pflanzenmaterial beruhen auf Extraktion des pflanzlichen Gewebes mit Wasser oder organischen Lösungsmitteln. Diese Methoden sind mit folgenden erheblichen Fehlerquellen behaftet:

1. Die Extraktionen werden im allgemeinen unter Anwendung hoher Temperaturen durchgeführt. Dabei kann einerseits ein thermolabiler Hemmstoff seine Wirksamkeit teilweise oder vollständig verlieren, andererseits besteht die Möglichkeit, daß unter der Einwirkung einer hohen Temperatur oder des Lösungsmittels selbst ein Umbau der spezifischen Substanz erfolgt, demzufolge der Hemmstoffcharakter zwar erhalten bleibt, andere Eigenschaften aber verlorengehen.

2. Bei einer Extraktion von Pflanzenmaterial mit organischen Lösungsmitteln, besonders aber mit Wasser, stellt der gewonnene Extrakt ein Gemisch von Hemmstoff und Wuchsstoff, oftmals wohl auch von inaktivem Wuchsstoff dar.

Nun besteht zwar die Möglichkeit, mit Hilfe eines geeigneten Testes Rückschlüsse auf den Gehalt des Extraktes an Wuchsstoff und Hemmstoff zu ziehen, wie es MOEWUS (1949) mit dem Kressetest vorschlägt. Dieser Weg ist jedoch nur gangbar, wenn Hemmstoff und Wuchsstoff in ihrer Wirkungsweise auf das Testobjekt festgelegt sind. Er muß aber versagen, wenn dies nicht der Fall ist, also bei einem unbekannten Hemmstoff, und erst recht, wenn dieser unbekannte Hemmstoff in seiner Wirkungsweise sich nicht additiv zur Wuchsstoffwirkung verhält. Ein solches additives Verhalten des Hemmstoffes zum Wuchsstoff ist keinesfalls immer zu erwarten, insbesondere dann nicht, wenn der Hemmstoff unmittelbar mit dem Wuchsstoff in Reaktion tritt. Mit einer solchen Möglichkeit ist aber bei der Isolierung eines unbekannten Hemmstoffes zu rechnen.

3. Zur Trennung von Hemmstoff und Wuchsstoff in einem Extrakt zerstört man den aktiven Wuchsstoff durch Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd.

Der von BOYSEN JENSEN (1939) vorgeschlagene und von HEMBERG (1948) befolgte Weg, durch Diffusion Hemmstoff und Wuchsstoff zu trennen, führt zwar zu einer Trennung beider Stoffe, aber nicht zu einer Anreicherung des Hemmstoffes, wie sie zu einer Analyse seiner Wirkung wünschenswert ist.

Bei Zerstörung des aktiven Wuchsstoffes zur Gewinnung reinen Hemmstoffes sind die gleichen Fehlerquellen in Rechnung zu stellen, wie bei der Anwendung hoher Temperaturen. Da die Testobjekte auf die geringsten Spuren von Wasserstoffsuperoxyd ansprechen, muß dieses vor dem Test restlos aus dem Extrakt wieder entfernt werden. Der

sicherste Weg hierzu ist ein Eindampfen bis zur Trockne. Ob bei einer derartigen Behandlung eine organische Substanz, der als Wachstumsregulator wahrscheinlich Fermentcharakter zukommt, ihre in der Pflanze vorliegende Konstitution beibehält, ist sehr fraglich. Von der Wirkung eines mit Wasserstoffsuperoxyd behandelten Extraktes kann daher zwar auch nur mit Einschränkung auf das Vorhandensein eines Hemmstoffes geschlossen werden, nicht aber auf die Wirkungen dieses Hemmstoffes, die er vor der Extraktion in der Pflanzenzelle auszuüben vermochte.

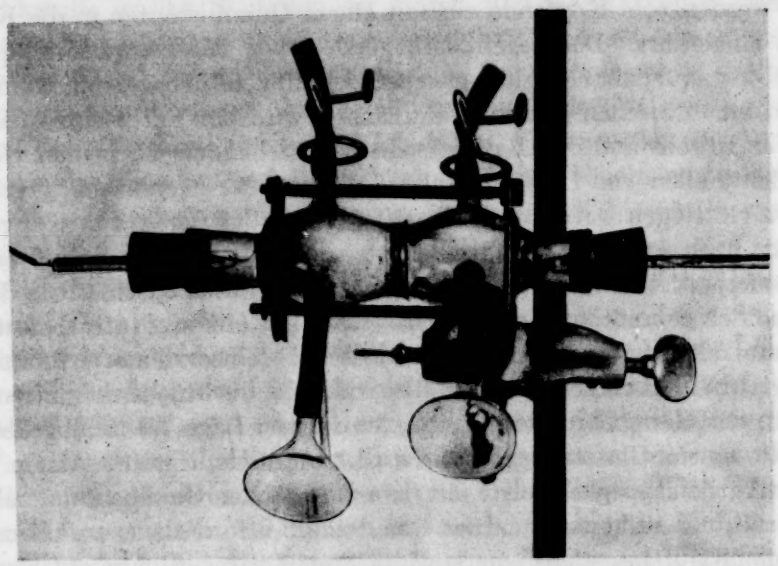


Abb. 1. Apparatur zur Gewinnung und Isolierung von Hemmstoff durch Elektrodialyse von Pflanzenmaterial.

Es mußte demnach ein neuer Weg zur Isolierung von Hemmstoff aus pflanzlichem Gewebe eingeschlagen werden, um diese Fehlerquellen auszuschalten. Sofern der zu untersuchende Hemmstoff keine organische Säure ist, sondern eine neutral oder basisch reagierende Substanz, kann man ihn vom sauren Wuchsstoff isolieren, indem man diesen dem Extrakt oder dem pflanzlichen Gewebe auf kataphoretischem Wege entzieht. Bei Vorliegen eines neutralen Wuchsstoffes, z. B. von Indolacetaldehyd, ist dies natürlich nicht möglich. In Gramineen-Karyopsen, mit denen im folgenden in erster Linie gearbeitet wurde, liegt dieser neutrale Wuchsstoff nach den bisherigen Untersuchungen nicht vor, sondern allein freie und an Eiweiß gebundene β-Indolylessigsäure, die in der gebundenen Form als „auxin-precursor" oder inaktiver Wuchsstoff zu werten ist (Haagen-Smit, Donliker, Wittwer und Murneck 1946). Auch dieser gebundene Wuchsstoff war, um allein den Hemmstoff und seine Wirkung analysieren zu können, von dem Hemmstoffextrakt zu trennen. Dies ist bei einer Dialyse des Hemmstoffes durch

ein eiweißundurchlässiges Filter leicht zu erreichen. Auf Grund dieser Forderungen und Überlegungen wurde folgende Apparatur aufgebaut (Abb. 1): Sie stellt im Prinzip einen vereinfachten Elektrodialysator dar. Sie besteht aus zwei Kammern, die den Kathoden- und Anodenraum bilden. Jede Kammer faßt 25 cm³ Lösung und ist unten mit einem Ablaufstutzen, seitlich mit einem Einfüllstutzen und oben mit einem Stutzen zum Entweichen der Luft beim Füllen der Kammer versehen. Die Platinelektroden, die zur Befestigung in Glasrohr eingeschmolzen sind, werden vom Kopfende aus mit einem Gummistopfen in die Kammern eingeführt. Das gegenüberliegende Ende der Kammer ist plangeschliffen und paßt sich einer gleichen Schliffläche der anderen Kammer genau an. Zwischen diesen Schliffflächen wird ein Filter eingespannt, das für Eiweiß undurchlässig ist. In nachstehenden Versuchen wurde in allen Fällen ein Ultra-Cellafilter „feinst" der Membranfiltergesellschaft Göttingen verwandt, das auf Undurchlässigkeit für Kongorot geprüft nach Angaben der Firma für feinste Kolloide und Eiweiß somit unpassierbar ist. Die beiden Kammern wurden durch 3 Schrauben dicht aneinander gepreßt und mit einem Halter an einem Stativ befestigt.

Zur Isolierung von Hemmstoff wurde das feinzerkleinerte Pflanzenmaterial bei zusammengesetzter Apparatur in die Anodenkammer eingefüllt, der Gewebebrei dann mit einer dünnen Lage Watte abgedeckt, die mit einem Glasstab gehalten wird. Dadurch liegt die Anode frei in der Anodenflüssigkeit, ohne mit dem pflanzlichen Gewebe unmittelbar in Berührung zu kommen. Dies war deshalb erforderlich, weil dem an der Anode auftretenden Sauerstoff im Status nascendi eine starke zerstörende Wirkung auf den zu gewinnenden Hemmstoff zugeschrieben werden mußte. Nach Einführung des Gewebes wurden beide Kammern mit Aqua bidest. gefüllt, das mit Salzsäure (2 Tropfen einer 1 n HCl-Lösung auf 100 cm³ Aqua bidest.) schwach angesäuert wurde. Den Strom zur Extraktion des Wuchsstoffes lieferte eine 8-Volt-Batterie, an die die beiden Elektroden unter Zwischenschaltung eines Regulierwiderstandes und eines Ampèremeters angeschlossen wurden. Die Extraktion des Wuchsstoffes und Dialyse des Hemmstoffes erfolgte bei 0,8—1,5 mA über einen Zeitraum von 8—12 Std. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Lösung der Kathodenkammern auf ihren Hemmstoffgehalt geprüft, die Lösung der Anodenkammer verworfen.

2. Elektrodialyse von Hemmstoff aus Kartoffelschalen und die Wirkung des gewonnenen Hemmstoffes auf die Kressewurzel.

Abgesehen von den Blastokolinen, deren Bedeutung als spezielle Wachstumsregulatoren recht zweifelhaft ist (PAECH 1949), sind Hemmstoffe, die wahrscheinlich unmittelbar mit den Wachstumsprozessen in

Verbindung stehen, im Gewebe höherer Pflanzen oftmals nachgewiesen und ihre Bedeutung innerhalb der Entwicklungsprozesse der Pflanze diskutiert worden (Boysen-Jensen 1939, Stewart 1939, Stewart, Bergen und Redemann 1939, Larsen 1939, Linser 1940 und 1948).

Eine eingehende Behandlung fand das Problem Hemmstoff-Wuchsstoff durch Hemberg (1947) und durch Funke und Söding (1948) bei Untersuchungen über den Gehalt der Kartoffelknolle an Wuchsstoff und Hemmstoff, sowie von Voss (1939) bei der Analyse der gleichen Wirkstoffe in den Skutellen der Hafer- und Maiskaryopse. Hemberg konnte in der Kartoffelknolle zwei Hemmstoffe, einen sauren und einen neutralen feststellen, deren Gehalt in der Schale nicht triebfähiger Knollen sehr hoch ist. Einige Wochen nach der Reife mit Zunahme der Triebfähigkeit sinkt der Gehalt an Hemmstoffen stark ab. In treibenden Knollen sind diese Hemmstoffe nicht mehr nachweisbar.

Es war zunächst zu überpüfen, ob trotz der Gegenwart eines neutralen Wuchsstoffes, des Indolacetaldehyds, ein Nachweis des neutralen Hemmstoffes der Kartoffelknolle mit obiger Apparatur geführt werden kann. Dazu wurden 10 g Kartoffelschalen im Mörser mit Quarzsand fein zerrieben und 12 Std bei einem Stromfluß von 1,2 mA dialysiert. Anschließend wurde die Kathodenflüssigkeit 1:1 verdünnt und mit 1 n Salzsäure auf p_H 6,5 angesäuert. Die Wirkung dieser Lösung auf das Wachstum der Wurzeln von *Lepidium sativum* wurde nach den Angaben von Moewus (1949) bestimmt. Die Ausgangslösung und ihre Verdünnungsstufen 10^{-1} bis 10^{-4} wurden an jeweils 12 Kressewurzeln vergleichend mit den Wasserkontrollen getestet. Die Sicherung der Ergebnisse erfolgte nach der Varianzanalyse. Gegen die Wasserkontrollen mit 99% gesicherte Werte sind im folgenden mit !! gekennzeichnet, die mit 95% mit !. In fast allen Versuchen waren Differenzen zwischen den prozentualen Wachstumswerten von 8% gut gesichert.

Die Kathodenflüssigkeit hemmt, wie Tabelle 1, Spalte 2, zeigt, das Wachstum der Kressewurzeln um 31%. Da diese Hemmung bei stärkerer Verdünnung der Ausgangslösung nicht in eine Förderung umschlägt, handelt es sich nicht um eine durch hohe Wuchsstoffkonzentration ausgelöste Wachstumshemmung. Ein Vergleich mit der Heteroauxin-Standardkurve (Spalte 5) zeigt weiterhin, daß mit der ersten Verdünnungsstufe die Hemmwirkung unserer Lösung langsamer abnimmt, als bei gleicher Verdünnung die wachstumshemmende Wirkung des Heteroauxins. Ebenso verschieden ist aber auch die Wirkung des Cumarins von der unseres Hemmstoffes, da die Verdünnungsstufe 10^{-1} der Kathodenlösung noch eine mit 99% gesicherte Hemmung des Wachstums auslöst, während Cumarin in dieser Verdünnung bereits ohne Einfluß auf das Wachstum der Kressewurzeln ist. Das gleiche gilt

Tabelle 1. *Hemmwirkung der Kathodenlösung bei Extraktion von 10 g Kartoffelgewebe in Prozenten der Wasserkontrolle und ein Vergleich dieser Werte mit der Heteroauxin- und Cumarin-Standardkurve nach* MOEWUS.

Extrakt aus Schalen junger Kartoffeln: Sch. jung, alter Kartoffeln: Sch. alt, und aus einem Kartoffelgewebe ohne Schalen: ohne Sch.

Kathodenlösung Verdünnungs-Stufen	Prozentuale Hemmung gegen Wasserkontrolle			Interpolierte Werte der Standardkurven von	
	Sch. jung	Sch. alt	ohne Sch.	Heteroauxin	Cumarin
10^{-0}	−31!!	−21!!	±0	−31	−31
10^{-1}	−18!!	−5	−1	−6	±0
10^{-2}	−3	−1	±0	+5	±0
10^{-3}	−1	+2	±0	+12	±0
10^{-4}	+1	±0	−1	+10	±0

für einen Vergleich mit den Wirkungskurven der Benztetronsäure und Parasorbinsäure (MOEWUS 1949). Wenn schon die Gewinnungsmethode unseres Hemmstoffes eine Identität mit einer dieser organischen Säuren ausschließt, so erfolgte diese Gegenüberstellung nur um zu zeigen, daß die Wirkungskurve des durch Elektrodialyse gewonnenen Hemmstoffes einen wesentlich anderen Verlauf aufweist als die der Blastokoline nach MOEWUS. An der Wirkungskurve des Skutellum-Hemmstoffes soll dies weiter unten nochmals eindeutig bestätigt werden.

Daß es sich bei der Kathodenlösung um ein Gemisch eines Hemmstoffes nach Art der Blastokoline und eines Wuchsstoffes handelt, ist ausgeschlossen, da einmal eine Wachstumsförderung bei stärkeren Verdünnungen fehlt, zum anderen nur ein geringer Unterschied zwischen der Wirkung der Ausgangslösung und ihrer Verdünnung 10^{-1} besteht, deren Differenz mit 99% gesichert ist. Der Unterschied müßte bei einer additiven Wirkung von Wuchsstoff und Hemmstoff wesentlich höher ausfallen.

Nach HEMBERG (1947) nimmt der Gehalt an Hemmstoff in den Schalen der Kartoffel im Laufe der Nachreife sehr schnell ab. 10 Wochen nach der Ernte ist kein Hemmstoff mehr nachzuweisen. Auch wir konnten eine Abnahme des Hemmstoffes, wie Tabelle 1 im Vergleich der Spalte 2 mit Spalte 3 zeigt, nachweisen.

Aus Kartoffelgewebe ohne Schalen (Spalte 4) konnte durch Elektrodialyse kein Hemmstoff und ebenso kein neutraler Wuchsstoff gewonnen werden. Nach unserer Gewinnungsmethode dürfte der durch Dialyse gewonnene Hemmstoff aus Kartoffelschalen junger Kartoffeln der neutrale Hemmstoff nach HEMBERG (1947) sein. Mit Sicherheit aber kann aus diesen Versuchen geschlossen werden, *daß der durch Elektrodialyse isolierte Hemmstoff mit den bekannten organischen Säuren mit Hemmstoffcharakter, die* MOEWUS *(1949) als „Antagonisten" des Wuchsstoffes bezeichnet, nicht identisch ist.*

3. Das Verhalten des durch Elektrodialyse isolierten Hemmstoffes aus Maisskutellen.

HEMBERG (1947) hat in der Kartoffel neben dem sauren Wuchsstoff auch einen neutralen Wuchsstoff, den Indolacetaldehyd, nachgewiesen. Wenn wir in unseren Versuchen diesen Wuchsstoff weder bei der Dialyse von Kartoffelschalen noch Kartoffelgewebe ohne Schalen im Kathodenraum mit dem Hemmstoff zusammen vorfanden, so erschien es uns doch zweckmäßig, von einem anderen Pflanzenmaterial zur Gewinnung von Hemmstoff auszugehen. Als besonders günstiges Ausgangsmaterial erwiesen sich die Maisskutellen.

Die Gewinnung des von Voss (1939) im Maisskutellum gefundenen Hemmstoffes auf dem Wege der Elektrodialyse und die Abnahme dieses Hemmstoffes im Verlaufe der Keimung ist von TEGETHOFF an anderer Stelle (1951) ausführlich geschildert worden. Über sein nicht additives Verhalten gegenüber Heteroauxin und nativem aus dem Endosperm gewonnenen Wuchsstoff wurde bereits berichtet (POHL und TEGETHOFF 1949). Hier soll auf die Natur dieses Hemmstoffes, seine Wirkungskurve im Kressetest und auf seine Beziehung zur β-Indolylessigsäure im einzelnen eingegangen werden.

Werden 100 Skutellen von 24 Std vorgequollenen Maiskaryopsen fein zerrieben und 12 Std *ohne* Anlegen eines Stromes in der beschriebenen Apparatur dialysiert, so zeigt der Extrakt im Kressetest Wuchsstoffwirkung (Tabelle 2, Spalte 2). Werden dieselben Skutellen nochmals 18 Std, nun aber bei einem Stromfluß von 1 mA dialysiert, dann enthält der Extrakt keinen Wuchsstoff mehr, sondern allein Hemmstoff, wie aus Spalte 3, Tabelle 2, hervorgeht. Um zu prüfen, ob der gewonnene Hemmstoff eine neutrale Substanz oder ein basisch reagierender organischer Körper, etwa eine basisch reagierende Aminosäure ist, wurde nach der Dialyse die Anodenkammer entleert, gut ausgespült und mit Aqua dest. gefüllt. Danach wurden die Elektroden umgepolt, so daß nun in die Hemmstofflösung die Anode und in die mit Aqua dest. gefüllte Kammer die Kathode tauchte. Durch dieses System floß für 12 Std ein Strom von 0,8 mA. Danach wurde die Flüssigkeit des Kathoden- und Anodenraumes gesondert getestet. Beide zeigten keine Wirkung mehr auf das Wachstum des Kressewurzeln. Offensichtlich wurde der Hemmstoff zerstört. Diesem Unwirksamwerden können zwei Ursachen zugrunde liegen. Einmal hat sich der durch Elektrodialyse gewonnene Hemmstoff als sehr unbeständig bei Zimmertemperatur erwiesen (TEGETHOFF 1951). Zum anderen kann der an der Anode auftretende Sauerstoff den Hemmstoff oxydieren, da die Anode nun unmittelbar in die Hemmstofflösung eintaucht. Um daher zunächst von einer höheren Hemmstoffkonzentration ausgehen zu können, wurden frische Skutellen unmittelbar bei 0,8 mA 12 Std dialysiert. Die Wirkung

Tabelle 2. *Hemmwirkung des Extraktes dialysierter Maisskutellen.* (Nähere Angaben im Text.)

Verdünnungsstufen	Extrakt ohne Strom	Extrakt mit Strom		Extrakt nach Umpolung		Extrakt bei gleicher Polung	
		gleicher Skutellen	frischer Skutellen	Kathode	Anode	Kathode	Anode
10^{-0}	—51,3!!	—50!!	—74!!	—6	—3	—57!!	—44!!
10^{-1}	—19,7!!	—5	—38!!	—7	—6	—19!!	—11!!
10^{-2}	+6!	—4	—16,5!!	+1	—0,5	—2	—1,5
10^{-3}	+11!!	+2	—1,5	—	—	—	—
10^{-4}	+15!!	—3	—4	—	—	—	—
10^{-5}	+4	±0	+2	—	—	—	—

des neuen Extraktes auf die Kressewurzeln zeigt Spalte 4 der Tabelle 2. Nun wurde wiederum die Anodenkammer entleert und mit Aqua bidest. gefüllt; eine Umpolung der Elektroden wurde aber nicht vorgenommen, und bei einem Stromdurchgang von 0,5 mA die Apparatur für 12 Std in den Kühlschrank bei 10° C gestellt. Danach wurden die Flüssigkeiten beider Kammern getrennt getestet. Nun zeigt auch die Flüssigkeit in der Anodenkammer eine Hemmwirkung, die zwar nicht so stark ist, wie die des Kathodenraumes, deren Wirkung aber ebenfalls abgenommen hat (Spalte 7 und 8). Dieser Versuch zeigt eindeutig, daß der Hemmstoff von der Kathode zur Anode diffundiert ist, also eine neutral reagierende Substanz sein muß.

Weiterhin lehrt dieser Versuch, daß die Hemmwirkung der Kathodenflüssigkeit nicht auf eine hohe Kationenkonzentration zurückgeführt werden kann, da auch die Lösung in der Anodenkammer, in der keine Konzentrierung von Kationen wie im Kathodenraum vorliegen kann, eine Hemmwirkung aufweist.

Der Hemmstoff des Maisskutellums ist demnach eine neutral reagierende Substanz, die durch ein für Eiweiß undurchlässiges Filter zu diffundieren vermag. Durch Sauerstoff im Status nascendi wird er wahrscheinlich zerstört.

4. Die Wirkungskurve des Skutellum-Hemmstoffs auf die Kressewurzel.

Zur Festlegung der Wirkungskurve des Hemmstoffes wurden Verdünnungsreihen der Kathodenflüssigkeit nach Elektrodialyse von je 100 Skutellen mit 24 Std vorgequollenen Maisskutellen sowohl im Logarithmus mit der Basis 2 als auch mit der Basis 10 getestet. Bei 20 Versuchen, die vom November 1949 bis Mai 1950 durchgeführt wurden, betrug die Hemmwirkung der Ausgangslösung im Mittel 70% (Extremwerte 52% und 83%). Die Ergebnisse der Testreihen sind in Abb. 2 zusammengefaßt. Die Wachstumshemmung nimmt demnach proportional der Verdünnung ab und folgt dabei weitgehend der Wirkungskurve des Heteroauxins, nur daß sie bei stärkeren Verdünnungen

keine Förderung aufweist, sondern sich langsam der Abszisse nähert und bei einer Verdünnung von 10^{-3} bis 10^{-4} mit ihr zusammenfällt. Es ist dabei zu bemerken, daß die geringe Hemmung bei der Verdünnung 10^{-3} gegenüber dem Kontrollwert statistisch nicht mehr gesichert ist. Eine genauere Analyse der Abweichung zwischen der Heteroauxin- und Hemmstoffwirkungskurve in der Nähe der Abszisse ist leider im Kressetest nicht möglich, da dieser zu große Schwankungen aufweist und zu unempfindlich ist. In diesem Bereich müßten aber Differenzen von wenigen Prozenten erfaßt werden. Es darf angenommen werden, wie bereits aus den vorliegenden Versuchen zu ersehen ist, daß die Hemmstoffwirkungskurve bei einer Hemmung von 15% und weniger flacher verläuft als die Wuchsstoffkurve. Dieser kritische Punkt bedarf noch einer weiteren Bearbeitung. Es erscheint zweckmäßig, hier mit einem anderen Testobjekt weitere Aufschlüsse über den Unterschied zwischen der Hemm- und Wuchsstoffwirkung aufzuzeigen. Aus vorliegenden Ergebnissen kann aber bereits als gesichert angesehen werden, daß *der mittels Elektrodialyse aus Maisskutellen gewonnene Hemmstoff in hohen Konzentrationen die gleiche Wirkung auf das Wachstum der Kressewurzeln zeigt, wie Wuchsstoff in Konzentrationen bis zu 10^{-8} g/cm³. Bei schwächerer Konzentration bleibt dagegen die für die Wuchsstoffwirkung charakteristische Förderung aus.*

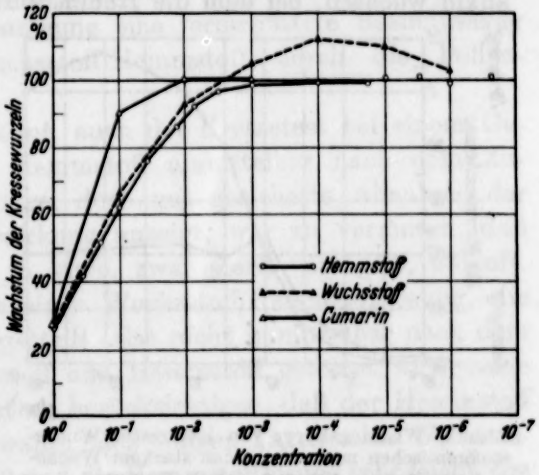


Abb. 2. Wirkungskurve des Hemmstoffes auf die Kressewurzel im Vergleich mit der Wirkungskurve der β-Indolylessigsäure.

5. Die Wirkung eines Gemisches von Skutellumhemmstoff und Heteroauxin auf das Wachstum der Kressewurzeln.

Die auffallend gleiche hemmende Wirkung, die der Skutellumhemmstoff und der Wuchsstoff in höherer Konzentration auf das Wachstum der Kressewurzeln ausüben, legt den Gedanken nahe, daß beide Stoffe in die gleichen physiologischen Prozesse der Wurzel eingreifen. Es war daher von großem Interesse zu wissen, ob sich diese Stoffe, wie es Moewus (1949) für die Blastokoline und den Wuchsstoff nachgewiesen hat, in ihrer Wirkung additiv verhalten oder nicht. Bei einem additiven Verhalten müßte auf ein Eingreifen dieser Stoffe an verschiedenen

Prozessen im Plasma geschlossen werden. Wie wir bereits (POHL und TEGETHOFF 1949) mitgeteilt haben, ist dies nicht der Fall. Es zeigt sich vielmehr, daß bei Zusammengeben von β-Indolylessigsäue und Skutellumhemmstoff unmittelbar vor dem Test der Wuchsstoff nur dann eine Wirkung zeigt, wenn er in einer Konzentration im Gemisch vorliegt, die eine stärkere Hemmung auslöst als der Hemmstoff selbst. Abb. 3 verdeutlicht dies. Es sind hier die Wachstumswerte der Kressewurzeln abgetragen, die in einem Gemisch von Hemmstoff und Heteroauxin wuchsen, bei dem die Hemmstofflösung allein eine Wachstumshemmung von 60% auslöste. Zur Herstellung der verschiedenen Gemische wurde zu je 4 cm^3 Hemmstofflösung jeweils 1 cm^3 H_2O oder β-Indolylessigsäure in einer solchen Konzentration zugegeben, daß in 5-cm^3-Lösung der Wuchsstoff in Konzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-13} g/cm^3 vorlag. In den Wuchsstoff-Hemmstoffgemischen mit den Heteroauxinkonzentrationen 10^{-3} bis 10^{-7} g/cm^3 entsprechen die Wachstumswerte der Kressewurzeln denen in reinen Heteroauxinlösungen; in den Gemischen mit den Heteroauxinkonzentrationen 10^{-7} bis 10^{-13} g/cm^3 dagegen dem Wert der reinen Hemmstofflösung. Ein additives Verhalten von Wuchsstoff- und Hemmstoffwirkung liegt demnach nicht vor. Daraus kann gefolgert werden, daß der Hemmstoff in den gleichen Ablauf der Wachstumsprozesse eingreift wie der Wuchsstoff. Zwar müssen auch dann Wuchsstoff und Hemmstoff in einem Gemisch einen stärkeren Einfluß auf das Wachstum ausüben als einer der beiden Wirkstoffe allein, da die Menge eines jeden im Gemisch und auch einzeln gegeben dieselbe ist. Nun ist aber der Kressetest im Bereich höherer Wirkstoffkonzentrationen, wie sie in den vorherstehenden Versuchen vorlagen, zu empfindlich, um mit Sicherheit so relativ geringe Wirkstoffdifferenzen anzuzeigen. Erst bei einem Test der Verdünnungsreihen eines solchen Gemisches müßten diese kleinen Differenzen im Wirkstoffgehalt erfaßt werden. Derartige Verdünnungsreihen wurden bereits früher getestet und dabei das überraschende Ergebnis einer Abnahme der Wuchsstoffwirkung gleichzeitig mit der Hemmstoffwirkung gemacht (POHL und TEGETHOFF 1949 und TEGETHOFF 1951). Wir schlossen daraus, daß der Hemmstoff des Maisskutellums nicht als Antagonist des Wuchsstoffes, sondern als Wuchsstoffinaktivator wirkt.

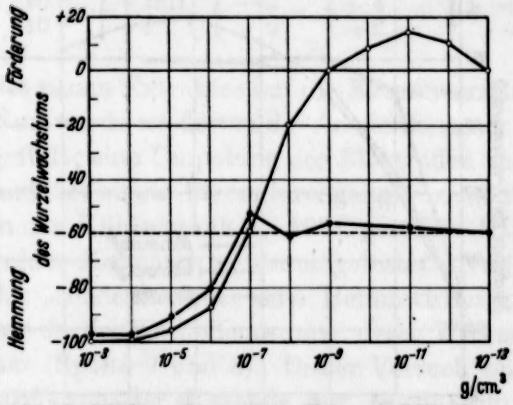


Abb. 3. Wirkungskurve von Hemmstoff/Wuchsstoffgemischen mit verschieden starkem Wuchsstoffanteil. Getestet unmittelbar nach Zusammengeben der Wirkstoffe.

Die gleiche Beobachtung konnte bei einer Untersuchung des Einflusses eines Hemmstoff/Wuchsstoffgemisches auf das Wachstum von Pollenschläuchen gemacht werden (Pohl 1950). Hier zeigten auch in höheren Konzentrationen Wuchsstoff und Hemmstoff keine Wirkung mehr, obwohl jeder für sich allein eine Wachstumshemmung der Pollenschläuche von 30% auslöste. Wenn wir voraussetzen, daß auch hier der Hemmstoff mit dem Wuchsstoff in Reaktion getreten ist, so muß dieser Prozeß bei der vorliegenden relativ großen Wuchsstoffmenge (10^{-4} Mol) erheblich durch die Pollenschläuche gefördert worden sein. Wir nehmen für die Beschleunigung eine fermentative Beeinflussung des Bindungsvorganges Wuchsstoff-Hemmstoff durch die Pollenschläuche an.

Da aber, wie bereits erwähnt, auch der Kressetest bei einem Gemisch von Wuchsstoff und Hemmstoff unmittelbar nach dem Zusammengeben eine zwar geringe, doch gut gesicherte Abnahme der Hemmstoff- und Wuchsstoffwirkung anzeigt, war zu vermuten, daß dieser Bindungsprozeß auch in vitro, zwar stark verzögert, abläuft. Dieses müßte bei dem Test einer Wuchsstoff/Hemmstofflösung, die einige Zeit vor dem Test hergestellt, also nicht unmittelbar nach dem Zusammengeben von Wuchsstoff und Hemmstoff getestet wird, seine Bestätigung finden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß der Hemmstoff bei Zimmertemperatur aufbewahrt nach einigen Tagen seine Wirksamkeit verliert (Tegethoff 1950) und die Hemmstofflösung sehr leicht von Bakterien befallen wird, die nach unseren bisherigen Erfahrungen besonders mit Heteroauxin gemischt ein ideales Nährmedium für Bakterien abzugeben scheint. Da wir, wie eingangs erwähnt, um einen Umbau des Hemmstoffes bei der Extraktion zu vermeiden, bei der Gewinnung und Isolierung des Hemmstoffes auf die Anwendung hoher Temperaturen verzichten wollten, wurde zunächst versucht, bei der Elektrodialyse des Hemmstoffes möglichst steril zu arbeiten. Trotz größter Vorsichtsmaßnahmen gelang es nur selten, den Hemmstoff, sofern er bei 26° C aufbewahrt wurde, über 3 Tage zu halten, ohne daß eine Trübung der an sich klaren Lösung durch auftretende Bakterien eintrat.

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse eines Versuches aufgeführt, in dem eine Hemmstofflösung, die nach ihrer Gewinnung getestet eine Hemmung des Wachstums der Kressewurzeln von 53% auslöste, mit β-Indolylessigsäure so versetzt wurde, daß in dem Gemisch Wuchsstoff/Hemmstoff diese in den in der Tabelle angegebenen Konzentrationen vorlag. Dieses Gemisch wurde mit einer reinen Hemmstofflösung und einer reinen Wuchsstofflösung von 10^{-6} g/cm³ im Dunkelraum bei 26° C aufbewahrt und nach 24 bzw. 48 Std die Wirkung der Lösungen getestet. Die Wirkung der reinen Hemmstofflösung ist bei 26° C bereits nach 24 Std auf die Hälfte und nach 48 Std auf ein Drittel des Ausgangswertes abgesunken. Die β-Indolylessigsäure hat in der vorliegenden

Tabelle 3. *Der Einfluß eines Gemisches von Hemmstoff und Wuchsstoff verschiedener Konzentration nach 24- und 48stündiger Aufbewahrung des Gemisches bei 26° C im Dunkeln.*

Stunden	Wachstum der Kressewurzeln in Prozenten der Wasserkontrolle					
	Hemmstoff	Wuchsstoff 10^{-4} g/cm³	Hemmstoff + Wuchsstoff			
			10^{-4} g/cm³	10^{-6} g/cm³	10^{-8} g/cm³	10^{-10} g/cm³
24	−24	−76	−90	−76	−16	−17
48	−18	−74	+23	+62	−19	+32

Konzentration von 10^{-6} g/cm³ auch nach 48 Std nicht an Wirksamkeit verloren. Auch das Hemmstoff/Wuchsstoffgemisch zeigt gegenüber einem Gemisch, das unmittelbar nach Zusammengeben von Hemmstoff und Wuchsstoff getestet wird, nach 24 Std nur geringe Abweichungen. Mit hohen Wuchsstoffkonzentrationen (10^{-4} bis 10^{-6} g/cm³) wird dieselbe Wachstumshemmung ausgelöst, wie sie der Wuchsstoff allein bewirkt. Bei den Gemischen mit den Wuchsstoffkonzentrationen 10^{-8} und 10^{-10} g/cm³ trat dagegen nicht mehr, wie es nach dem vorhergehenden Abschnitt zu erwarten war, die Wachstumshemmung in der Größenordnung der Hemmstoffwirkung auf, sondern eine geringere Wachstumshemmung. Die Differenzen dieser Werte mit dem der reinen Hemmstofflösung sind mit 95% gesichert. Die Wirkung des Hemmstoffes ist im Gemisch offensichtlich bereits nach 24 Std herabgesetzt. Nach 48 Std ergibt der Test dieser Gemische ein ganz anderes Bild. Bis auf die Hemmstoff/Wuchsstofflösung mit einer Wuchsstoffkonzentration von 10^{-8} g/cm³ fördern nun alle Gemische ganz erheblich das Wachstum der Kressewurzeln. Diese Förderung übertrifft bei weitem die durch eine optimale Wuchsstoffkonzentration zu erzielende Wachstumsförderung, die in unseren Testen maximal 18—20% betrug. Selbst die ohne Hemmstoff das Wachstum der Kressewurzel fast völlig sistierende Wuchsstoffkonzentration von 10^{-4} g/cm³ zeigt, gemischt mit Hemmstoff, nach 48 Std eine Wachstumsförderung von 23%. Alle Gemische wiesen vor ihrem Test eine leichte Trübung durch Bakterienbefall auf, die in dem Hemmstoff/Wuchsstoffgemisch 10^{-8} g/cm³ besonders auffallend war. Der plötzliche Umschlag in der Wirkung der Hemmstoff/Wuchsstofflösung von einer Hemmung in eine Förderung kann nicht als eine Bestätigung unserer Frage nach einer Bindung von Hemmstoff und Wuchsstoff in vitro ohne enzymatische Förderung gewertet werden; er muß vielmehr auf die bakterielle Verunreinigung des Gemisches zurückgeführt werden. Wird nämlich ein Hemmstoff/Wuchsstoffgemisch 3 Tage bei 4° C im Kühlschrank aufbewahrt, wodurch eine Entwicklung von Bakterien in der Lösung weitgehend unterbunden ist, so nimmt die wachstumshemmende Wirkung nur gering ab, während

Tabelle 4. *Der Einfluß von Wuchsstoff, Hemmstoff und eines Gemisches von Hemmstoff/Wuchsstoff (10^{-6} g/cm³), die bei 4° und 26° C 3 Tage aufbewahrt wurden, auf das Wachstum der Kressewurzeln.*

Aufbewahrt bei	Wachstum der Kressewurzeln in Prozenten der Wasserkontrolle			
	Wuchsstoff 10^{-6} g/cm³	Hemmstoff	Hemmstoff + Wuchsstoff (3 Tage)	Hemmstoff + Wuchsstoff (sofort)
4° C	—83	—65	—73,5	—84
26° C	—82	—24	+50	—80

im Parallelversuch bei 26° C Aufbewahrungstemperatur die Hemmung wiederum in eine Förderung des Wurzelwachstums übergeht (Tabelle 4).

Die Wuchsstofflösung zeigt keine merkliche Abnahme ihrer Wirkung, ob sie nun bei 4° oder 26° aufbewahrt wurde; die Hemmstofflösung hat dagegen wiederum erheblich bei 26° C an Wirkung verloren. Wird der bei 4° und 26° C aufbewahrte Wuchsstoff unmittelbar vor dem Test mit den unter gleichen Temperaturen gehaltenen Hemmstofflösungen zusammengegeben, so resultiert wieder die reine Wuchsstoffwirkung (Tabelle 4, Spalte 5). Der durch längeres Lagern abgebaute oder umgebaute Hemmstoff hebt somit nicht die Wuchsstoffwirkung auf, sondern erst durch Lagern beider Stoffe zusammen tritt diese Reaktion ein.

Im vorstehenden Versuch haben wir zwar durch Aufbewahrung des Hemmstoff/Wuchsstoffgemisches bei 4° C eine stärkere Bakterienentwicklung unterbinden können, müssen aber feststellen, daß die Reaktion für die angenommene Hemmstoff/Wuchststoffbindung, wenn sie überhaupt in vitro ohne Fermentzusatz abzulaufen vermag, bei 4° C auch nach 3 Tagen nur langsam fortgeschritten ist. — Wir haben nun entgegen unserem Vorsatz, den auf dem Wege der Elektrodialyse gewonnenen Hemmstoff weder zu erhitzen noch mit einem organischen Lösungsmittel in Verbindung zu bringen, die Hemmstoff/Wuchsstofflösung zunächst mit einem Äther/Acetongemisch unter O_2-Abschluß nach Schweizer (1937) im Vakuum kalt und weiterhin durch 15 min Erhitzen im kochenden Wasserbad sterilisiert; gleichzeitig erfuhren die reinen Hemmstoff- und Wuchsstofflösungen dieselbe Behandlung. Danach wurden alle Lösungen im Dunkeln bei 26° C aufbewahrt und nach 3 Tagen getestet. Die Wuchsstoffkonzentration betrug in allen Fällen 10^{-6} g/cm³. Von den durch Erwärmen sterilisierten Lösungen wurde ein Teil vor dem Test nochmals kurz aufgekocht (Tabelle 5, Zeile 3).

Die Wuchsstofflösung verliert durch die Sterilisation nicht an Wirksamkeit; der Hemmstoff behält im Gegensatz zu den vorhergehenden Versuchen, in denen er nicht sterilisiert wurde, nun über 3 Tage auch bei 26° C seine volle Wirksamkeit bei, die unmittelbar nach der Gewinnung 70,6% betrug. Das Gemisch Hemmstoff/Wuchsstoff weist nach

Tabelle 5. *Der Einfluß einer Sterilisation der Hemmstoff/Wuchsstofflösung auf die Bindung von Hemmstoff und Wuchsstoff.*

Art der Sterilisation	Wachstum der Kressewurzeln in Prozenten der Wasserkontrolle		
	Wuchsstoff 10^{-6}g/cm³	Hemmstoff	Hemmstoff + Wuchsstoff
Kalt mit Aceton/Äther	—80	—68	—67
15 min im kochenden Wasserbad . .	—81	—65,8	—52
Kurz vor dem Test aufgekocht . . .	—82	—66,4	—85

3 Tagen wiederum eine Abnahme in seiner wachstumshemmenden Wirkung auf, da unmittelbar nach dem Zusammengeben von Hemmstoff und Wuchsstoff der Wuchsstoffwert mit einer Hemmung von 80% resultiert. Bei der Kaltsterilisation ist diese Abnahme geringer als bei einer Sterilisation durch Erhitzen. Ein Umschlag der Wachstumshemmung in eine Wachstumsförderung, wie sie bei einem nicht sterilisierten Hemmstoff/Wuchsstoffgemisch schon nach 2 Tagen eintreten kann, erfolgt beim sterilisierten Gemisch auch nach 3 Tagen nicht. Letzterer ist daher zweifellos durch die Verunreinigung mit Bakterien verursacht.

Wir haben uns nun die Frage vorzulegen, ob beim Unwirksamwerden bzw. bei dem Umschlag der hemmenden Wirkung zu einer fördernden Hemmstoff und Wuchsstoff im Gemisch zerstört werden, und zwar der Hemmstoff schneller als der Wuchsstoff, so daß nach 3 Tagen im nicht sterilisierten Gemisch nur noch eine geringe Wuchsstoffmenge im Gemisch vorliegt, die dann die Förderung auslöst — die überaus starke Wachstumsförderung kann damit zwar nicht erklärt werden — oder eine Bindung von Hemmstoff und Wuchsstoff stattfindet, wie wir es (POHL und TEGETHOFF 1950, POHL 1950 und TEGETHOFF 1951) dargestellt haben. Liegt keine Zerstörung der beiden Wirkstoffe, sondern nur eine Bindung vor, so müßte nach Trennung von Wuchsstoff und Hemmstoff wieder die ursprüngliche Wirksamkeit des Gemisches auf das Wurzelwachstum resultieren. Durch ein leichtes Aufkochen des Gemisches scheint diese Aufhebung der Bindung zwischen Hemmstoff und Wuchsstoff möglich zu sein, wie die Ergebnisse der Tabelle 5, Spalte 3, zeigen. Es resultiert nach kurzem Erhitzen auf 100° wieder die reine Wuchsstoffwirkung.

Vorstehende Versuche bestätigen und erweitern unsere früheren Ergebnisse über das Unwirksamwerden eines Hemmstoff-Wuchsstoffgemisches in vitro. Ein völliges Aufheben der wachstumshemmenden Wirkung von Hemmstoff und Wuchsstoff in einem bakterienfreien Gemisch ist in vitro innerhalb von 3 Tagen nicht möglich; es erfolgt in diesem und auch kürzerem Zeitraum dagegen ganz und mit einem Umschlag in eine wachstumsfördernde Wirkung, wenn das Gemisch leicht mit Bakterien infiziert ist.

6. Versuche über den Einfluß des Sauerstoffes bei der Bindung zwischen Hemmstoff und Wuchsstoff.

Zur Klärung der Frage nach der Wuchsstoffbindung durch den Hemmstoff wurde zunächst untersucht, ob das Unwirksamwerden des Hemmstoffes selbst damit im Zusammenhang steht. Wir wissen, daß der Hemmstoff bei 4° C längere Zeit seine Wirksamkeit beibehält, während er sie bei 26° C nach einigen Tagen verliert. Ein Einleiten von Sauerstoff in eine Hemmstofflösung und 12stündige Aufbewahrung dieser Lösung in O_2-Atmosphäre ergab, daß sowohl bei 4° als auch bei 26° C die wachstumshemmende Wirkung der Hemmstofflösung sich erheblich verringert (Tabelle 6, Spalte 2). Die Ausgangslösungen des Hemmstoffes in diesen Versuchen hatten Hemmwirkungen von 56% (4°) und 64% (26°). Wir dürfen daraus schließen, daß der Hemmstoff durch eine Oxydation abgebaut wird, wie wir bereits die Einwirkung des naszierenden Sauerstoffes der Anode als den Hemmstoff zerstörend in Erwägung gezogen haben. Um zu ergründen, ob durch diese Oxydation des Hemmstoffes eine neue Substanz entsteht, die ihrerseits die Wirkung des Wuchsstoffes auf die Kressewurzeln herabsetzt oder überdeckt, wurde zu den mit O_2 behandelten Hemmstofflösungen Wuchsstoff in einer Konzentration von 10^{-6} g/cm³ gegeben und unmittelbar danach die Gemische getestet. Sie zeigten wiederum die Wirkung der reinen Wuchsstofflösung.

Tabelle 6. *Der Einfluß von Sauerstoff auf die Hemmstoffwirkung und die Wirkung eines Gemisches von Wuchsstoff und oxydiertem Hemmstoff auf das Wachstum der Kressewurzeln.*

Hemmstoff aufbewahrt bei	Wachstum der Kressewurzeln in Prozenten der Wasserkontrolle		
	Hemmstoff ohne O_2	Hemmstoff mit O_2	Hemmstoff mit O_2 und Wuchsstoff 10^{-6} g/cm³
4° C	—55	—22	—84
26° C	—52	—11	—83

Mit Oxydation des Hemmstoffes entsteht somit keine neue Substanz, die die Wirkung des Wuchsstoffes überdeckt.

Im weiteren Verlauf unserer Untersuchungen leiteten wir den Sauerstoff nicht nur allein in die Hemmstofflösung, sondern gleichzeitig auch in die Wuchsstofflösung und in das Hemmstoff/Wuchsstoffgemisch ein.

Tabelle 7. *Der Einfluß von Sauerstoff auf die Bindung zwischen Hemmstoff und Wuchsstoff.*

	Wachstum der Kressewurzeln in Prozenten der Wasserkontrolle						
	Hemmstoff ohne O_2	Hemmstoff mit O_2	Wuchsstoff mit O_2 10^{-6} g/cm³	Hemmstoff/Wuchsstofflösung + O_2			
				10^{-4}	10^{-6}	10^{-8}	10^{-10} g/cm³
1 Tag	—54	—25	—20	—94	—83	—48	—49
3 Tage	—45	— 3	— 5	—96	—72	—46	—38

Die Gemische selbst wie auch die reinen Lösungen wurden zur Reaktion zwischen Wuchsstoff und Hemmstoff 1 Tag bzw. 3 Tage bei 26° C im Dunkeln aufbewahrt, ehe sie getestet wurden. Während Hemmstoff und Wuchsstoff, sofern sie allein der Einwirkung des Sauerstoffs ausgesetzt wurden, ihre Aktivität nach 3 Tagen fast verloren hatten, bleibt diese in einem Sauerstoff/Hemmstoffgemisch dagegen völlig erhalten. Das Ergebnis ist das gleiche, wie bei einem Test von Wuchsstoff/Hemmstofflösungen unmittelbar nach ihrem Zusammengeben (vgl. Abb. 3, S. 114). Die Tatsache, daß nun der Sauerstoff weder den Hemmstoff noch den Wuchsstoff anzugreifen vermag, kann nur durch einen Zusammenschluß der Wirkstoffe erklärt werden, der sie nicht mehr oxydabel macht. Nach diesem Zusammenschluß bleibt aber im O_2-gesättigten Medium die Wuchsstoff- bzw. Hemmstoffwirkung auf das Wachstum der Kressewurzeln bestehen. Nur in Abwesenheit von Sauerstoff oder bei einem niedrigen H^--Wert erfolgt wahrscheinlich durch enzymatische Auslösung der Umbau des Hemmstoffes und Wuchsstoffes zur inaktiven Form. In der Diskussion soll auf die weiteren Folgerungen, die sich aus diesen Versuchen über die Art der Bindung zwischen Wuchsstoff und Hemmstoff des Maisskutellums ergeben, näher eingegangen werden.

Diskussion der Ergebnisse.

Den vorliegenden Untersuchungen lag die Absicht zugrunde, die Rolle des Hemmstoffes bei den Wachstumsprozessen der Pflanze, insbesondere sein Verhältnis zum Wuchsstoff, einer näheren Analyse zu unterziehen. Dazu sollte der Hemmstoff nach Möglichkeit in der Form, in der er mit größter Wahrscheinlichkeit in der pflanzlichen Zelle vorliegt, zu den Untersuchungen herangezogen werden. Wir sahen deshalb von einer Extraktion des Hemmstoffes mit organischen Lösungsmitteln ab und isolierten den mit Wasser extrahierten Hemmstoff durch Elektrodialyse vom aktiven Wuchsstoff. Der so gewonnene Hemmstoff erwies sich als ein elektroneutraler Körper von einer Molekulargröße, die kleiner sein muß als ein Eiweiß, einer Größenordnung, die der des *Raphanus*-Hemmstoffes (STEWART 1939) wie auch der des Antiauxins der Koleoptile und Kartoffelknolle (FUNKE und SÖDING 1948) entspricht. Im Gegensatz zu den Ergebnissen sowohl von VOSS (1939) als auch von FUNKE und SÖDING ist die durch Elektrodialyse gewonnene Hemmstofflösung oxydierbar, d. h. der Hemmstoffcharakter dieser Lösung geht bei Einwirkung von molekularem und besonders naszierendem Sauerstoff verloren. Die Veränderung des Hemmstoffes durch den Sauerstoff der Luft, die mit einer Aufhebung der wachstumshemmenden Wirkung auf die Kressewurzel verbunden ist, erfolgt bei 26° C innerhalb weniger Tage. Da dieser Abbau bei 4° C dagegen sehr langsam vor sich geht und durch Erhitzen der Hemmstofflösung fast völlig unterbunden werden

kann, liegt der Gedanke nahe, daß es sich dabei um eine fermentative Oxydation handelt.

Bei der Umwandlung des neutralen Wuchsstoffes, des Indolacetaldehyds in die β-Indolylessigsäure, den sauren Wuchsstoff, liegt bekanntlich ein solcher Prozeß vor. Nur bei Anwesenheit von Sauerstoff wird das Indolacetaldehydhydrat durch das Schardinger-Enzym zur Säure dehydriert (LARSEN 1944). Anorganische Oxydationsmittel sind wirkungslos. Es erhebt sich nun die Frage: Ist unser Hemmstoff mit dem Indolacetaldehyd identisch? Diese Frage ist deshalb diskutierbar, da der isolierte, reine Hemmstoff bisher im Went-Test noch nicht nachgewiesen wurde, sondern nur in Verbindung mit aktivem Wuchsstoff. Der Grund hierfür liegt in der lokalen Wirksamkeit des Hemmstoffes (Voss 1939), die bei Aufbringen eines hemmstoffhaltigen Agarblöckchens auf den Koleoptilstumpf keine positive Krümmung der Koleoptile resultieren läßt. Nur im Zylindertest oder im Kressewurzeltest ist der Hemmstoff einwandfrei nachzuweisen. β-Indolacetaldehyd wurde aber bisher nur im Erbsentest, dabei interessanterweise mit negativem Erfolg, und im Went-Test, hier mit sehr wechselnden Resultaten (LARSEN 1944), geprüft. Einwandfrei wurden die Ergebnisse des Went-Testes erst dann, wenn der Aldehyd zum sauren Wuchsstoff vor dem Test oxydiert wurde. Es besteht nun zweifellos die Möglichkeit, daß der Indolacetaldehyd an sich eine wachstumshemmende Wirkung hat, diese aber im Went-Test aus dem oben erwähnten Grunde nicht in Erscheinung tritt, sondern vielmehr durch die wachstumsfördernde Wirkung der in den oberen Zellagen der Koleoptile aus dem Aldehyd entstandenen Wuchsstoffsäure überdeckt wird, die nunmehr basalwärts transportiert wird und ein gesteigertes Wachstum auslöst.

Der von Voss (1939, S. 263) an entsamten Koleoptilen beobachtete Krümmungsverlauf nach Auftragen von wuchsstofffreier Skutellumpaste ließe die gleiche Erklärung zu.

Im Maisskutellum wurde Indolacetaldehyd aber bisher noch nicht nachgewiesen. Ein Vergleich der Beständigkeit unseres Hemmstoffes gegen Säuren und Basen mit der des Indolacetaldehyds spricht nicht für eine Identität. Der Hemmstoff der Koleoptile und des Skutellums ist gegen Säuren und besonders gegen Basen beständig (FUNKE und SÖDING 1948, TEGETHOFF 1951), Indolacetaldehyd gegen beide dagegen sehr labil (HEMBERG 1948).

Die von uns vorgebrachten Argumente für eine etwaige Identität von Maisskutellum-Hemmstoff und Indolacetaldehyd sind ausschließlich theoretischer Natur. Daher wäre eine Überprüfung von Indolacetaldehyd in möglichst reiner Form auf seine Wirksamkeit im Kressetest wünschenswert.

Wir sahen weiterhin, daß sich die Wirkungskurve des Hemmstoffes fast völlig mit der Wirkungskurve der β-Indolylessigsäure deckt, soweit diese in einer das Wachstum der Kressewurzeln hemmenden Konzentration getestet wird. Diese Übereinstimmung ist so weitgehend, daß der Eindruck entstehen kann, es läge in der Hemmstofflösung β-Indolylessigsäure vor. Doch fehlt dieser Lösung die für den Wuchsstoff charakteristische, wachstumsfördernde Wirkung in starken Verdünnungen. Daraus kann mit Sicherheit geschlossen werden, daß der Hemmstoff in die gleichen physiologischen Prozesse eingreift wie der Wuchsstoff. Sollte die Übereinstimmung nicht rein zufällig sein, so kann daraus weiter für den Hemmstoff eine der β-Indolylessigsäure ähnliche Konstitution angenommen werden.

Eine Überprüfung der Hemmstofflösung mit $FeCl_3$ und H_2SO_4 nach TANG und BONNER (1947) ergab keinen Aufschluß. Da die stärkste Hemmstofflösung in ihrer Wirkung der einer 10^{-6} g/cm³ Heteroauxinlösung entsprach, war ein eindeutiger Befund mit diesem Reagens nicht zu erwarten, zumal nur die Wuchsstoffsäure, nicht der Indolkern damit nachweisbar ist.

Bezüglich der Wirkung des Hemmstoffes aus dem Maisskutellum in Kombination mit Wuchsstoff bestätigen vorliegende Versuche nochmals eindeutig unsere früheren Ergebnisse (POHL und TEGETHOFF 1949). Die Hemmstoffwirkung verhält sich nicht additiv zur Wuchsstoffwirkung. Andererseits wirkt der Hemmstoff aber auch nicht als Antagonist des Wuchsstoffes im Sinne Voss' (1939), der eine „Änderung des Reaktionsvermögens der Zellen auf Wuchsstoff" durch den Hemmstoff annahm und daraus die Wachstumsregulationen von Wurzel, Mesokotyl und Koleoptile von *Zea Mays* zu erklären suchte. Ebenso wie im Fall des Cumarins oder der Parasorbinsäure schließen unsere Testversuche mit einem Gemisch von Wuchsstoff und Hemmstoff eine Wirkung des Hemmstoffes als Wuchsstoffantagonist aus. Wenn erst die Anwesenheit von Hemmstoff „das Wurzelwachstum ermöglicht" (Voss 1939, S. 284), so müßte in einem Wuchsstoff/Hemmstoffgemisch eine starke Wuchsstoffkonzentration die Hemmstoffwirkung kompensieren oder umgekehrt, der Hemmstoff auch in einer starken Wuchsstofflösung ein Wachstum der Wurzel ermöglichen.

Dies ist aber keineswegs der Fall, sondern nur bei geringen Wuchsstoffkonzentrationen kann bei Anwesenheit von Hemmstoff das Optimum der Wuchsstoffwirkung unmittelbar nach Zusammengeben von Wuchsstoff und Hemmstoff getestet, von einer niederen zu einer höheren Wuchsstoffkonzentration verschoben werden. In diesen Verdünnungsstufen des Hemmstoff/Wuchsstoffgemisches zeigt der Hemmstoff allein keine wachstumshemmende Wirkung mehr.

Danach wirkt der Hemmstoff also nur dann als Antagonist des Wuchsstoffes im Sinne Voss', wenn er selbst in einer Konzentration

vorliegt, die ohne hemmenden Einfluß auf das Wachstum der normalen Wurzel ist. Von einem solchen Hemmstoff, der als Antagonist des Wuchsstoffes das „Reaktionsvermögen der Zellen auf Wuchsstoff herabsetzt", wäre zu erwarten, daß er in geringer Konzentration angewandt das Wurzelwachstum fördert, sofern eine Wurzel mit überoptimalem Wuchsstoffgehalt vorliegt. Bei einer Kressewurzel, wie sie für den Test gebraucht wird, ist eine solche Wachstumsförderung nicht möglich, da ihr Gehalt an Wuchsstoff zum Zeitpunkt des Testes unteroptimal ist. Bei einer Wurzel mit überoptimalem Wuchsstoffgehalt wäre dies noch zu überprüfen.

Von GALSTON (1947 und 1949) wird die Nikotinsäure als eine dem Wuchsstoff bei der Entwicklung der Pflanze entgegenwirkende Substanz geschildert. AUDUS (1948) hat den Einfluß der Nikotinsäure in Kombination mit β-Indolylessigsäure auf das Wachstum der Kressewurzeln untersucht. Einen sicheren Vergleich mit unseren Versuchen lassen die von AUDUS mitgeteilten Ergebnisse leider nicht zu, da er einmal das Frischgewicht der Kressewurzeln nach 7—8 Tagen Einwirkungszeit der Wirkstoffe bestimmt, zum andern keine Wuchsstoffkonzentration verwandt hat, die ohne Nikotinsäure eine geringere Hemmung auslöste als die stärkste Nikotinsäurekonzentration. Doch zeigen die Versuche AUDUS', daß auch die Nikotinsäure sich nicht additiv zur Wuchsstoffwirkung verhält, sondern vielmehr wie im Fall unseres Hemmstoffes bei Kombination von β-Indolylessigsäure und Nikotinsäure die Wirkung des Wuchsstoffes resultiert.

Da beim Test eines Wuchsstoff/Hemmstoffgemisches besonders dann, wenn die Hemmstoffkonzentration im Verhältnis zu der des Wuchsstoffes hoch ist, neben dem Wuchsstoff auch gleichzeitig der Hemmstoff an Wirksamkeit verliert, nahmen wir eine direkte Verkettung des Wuchsstoffes und Hemmstoffes nach Art einer chemischen Bindung an, deren Resultat ein inaktiver Wuchsstoff ist (POHL und TEGETHOFF 1949, TEGETHOFF 1951). Diese Inaktivierung des Wuchsstoffes durch den Hemmstoff bestätigen vorliegende Versuche. Selbst Wuchsstoffkonzentrationen, die ohne Hemmstoff das Wachstum der Kressewurzeln fast ganz unterbinden, zeigen nach zweitägiger Einwirkung von Hemmstoff keine wachstumshemmende Wirkung mehr. Andererseits unterbleibt diese Inaktivierung, wenn das Hemmstoff/Wuchsstoffgemisch mit Sauerstoff angereichert wird, obgleich sowohl der Hemmstoff als auch der Wuchsstoff isoliert voneinander durch Sauerstoff zerstört werden.

Über eine Inaktivierung der β-Indolylessigsäure wurde bisher nur von TANG und BONNER (1947) berichtet. Aus etiolierten Erbsenkeimlingen konnten sie ein Ferment isolieren, das die Seitenkette der β-Indolylessigsäure angreift und diese unter Abspaltung von CO_2 unwirksam macht. Dieses Ferment wirkt aber nur bei Anwesenheit von Sauerstoff. Eine solche Inaktivierung der β-Indolylessigsäure liegt in unserem Fall

nicht vor, da ein Gemisch von Wuchsstoff und Hemmstoff, das nach 2—3 Tagen keine hemmende, sondern eine wachstumsfördernde Wirkung zeigt, nach Aufkochen wiederum die Aktivität aufweist, die es unmittelbar nach dem Zusammengeben zeigte. Der Wuchsstoff wurde also nicht zerstört, sondern nur gebunden. TEGETHOFF nahm eine Esterbindung von Wuchsstoff und Hemmstoff an. Es ist aber sehr fraglich, ob eine solche Esterbindung durch ein kurzes Erhitzen auf 100° C gesprengt werden kann. Wahrscheinlicher ist, daß es sich dabei um eine adsorptive Bindung handelt, die vom Indolkern getragen wird, dem nach VELDSTRA (1944) starke adsorptive Eigenschaften zukommen. Da unter der Einwirkung von Sauerstoff der Indolkern eher gesprengt wird als eine Abspaltung oder Veränderung der Seitenkette mit der COOH-Gruppe erfolgt, muß der Indolkern in einem Hemmstoff/Wuchsstoffgemisch vor dem Eingriff des Sauerstoffs geschützt sein, ebenso aber auch ein sauerstoffempfindliches Konstitutionssystem des Hemmstoffes. Nur so kann der eigenartige Befund, daß Hemmstoff und Wuchsstoff in einer Lösung zusammengegeben vom Sauerstoff nicht angegriffen werden, erklärt werden. Eine solche adsorptive Bindung von Hemmstoff und Sauerstoff schirmt aber noch nicht die wirksame COOH-Gruppe der β-Indolylessigsäure ab.

Erst nach der ersten Verkettung von Wuchsstoff und Hemmstoff erfolgt nun wahrscheinlich fermentativ und nur bei einem bestimmten r_H-Wert der weitere Umbau zum inaktiven Wuchsstoff.

Über diesen zweiten Schritt der Wuchsstoffinaktivierung durch den Hemmstoff des Maisskutellums kann erst dann eine Aussage gemacht werden, wenn die Natur dieses Hemmstoffes erkannt ist. Gleichzeitig damit dürfte dann auch die überaus große wachstumsfördernde Wirkung des Wuchsstoff/Hemmstoffgemisches ihre Erklärung finden.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Der durch Elektrodialyse aus Maisskutellen isolierte Hemmstoff ist elektroneutraler Natur und kein Eiweiß.

2. Die Wirkungskurve dieses Hemmstoffes auf das Wachstum der Kressewurzeln zeigt den gleichen Verlauf wie die der reinen β-Indolylessigsäure in wachstumshemmenden Konzentrationen. Sie zeigt aber keine Wachstumsförderung bei niedrigen Konzentrationen, wie die β-Indolylessigsäure.

3. Wuchsstoff- und Hemmstoffwirkung verhalten sich nicht additiv. Ein Wuchsstoff/Hemmstoffgemisch hemmt unmittelbar nach dem Zusammengeben beider Wirkstoffe getestet unterhalb der reinen Hemmstoffwirkung das Wachstum der Kressewurzeln nach der Wirkung der zugegebenen Wuchsstoffkonzentration, oberhalb derselben nach der Hemmstoffkonzentration.

4. Ein Wuchsstoff/Hemmstoffgemisch, dessen Wuchsstoffanteil so stark ist, daß dieser allein das Wachstum der Kressewurzeln fast sistiert, verliert nach 2—3 Tagen nicht nur seine wachstumshemmende Wirkung, sondern löst nun eine starke Förderung des Wurzelwachstums aus.

5. Bei Einleiten von Sauerstoff in die Hemmstoff/Wuchsstofflösung unterbleibt dieser Umschlag in der Wirkung des Gemisches auf das Wachstum der Kressewurzeln, obwohl Hemmstoff und Wuchsstoff isoliert voneinander beide durch Sauerstoffeinwirkung unwirksam werden.

Literatur.

AUDUS, L. J.: Nicotinic Acid and the inhibition of growth by auxin. Nature (Lond.) **162**, 811 (1948). — BOYSEN JENSEN, P.: Kvantitativ Bestemmelse af Vaekststoffer af Auxingruppen ved Hjaelp af Diffusionsmetoden. Bot. Not. **169** (1939). — FUNKE, H., u. H. SÖDING: Über das Wuchsstoff-Hemmstoffsystem der Haferkoleoptile und der Kartoffelknolle. Planta (Berl.) **36**, 341 (1948). — GALSTON, A. W.: Indoleacetic-nicotinic acid interactions in the etiolated pea plant. Plant Physiology **24**, 577 (1949). — HAAGEN-SMIT, A. J., W. B. DANDLIKER, S. H. WITTWER and A. E. MURNECK: Isolation of β-indoleacetic acid from immature corn kernels. Amer. J. Bot. **33**, 118 (1946). — HEMBERG, T.: Studies of auxins and growth-inhibiting substances in the potato tuber and their significance with regard to its rest-period. Acta Horti Bergiani **14**, 133 (1947). — JUEL, J.: Studies on a growth-retarding substance in tomato. Dansk Bot. Arkiv **12**, 4 (1946). — LARSEN, P.: Über Hemmung des Streckungswachstums durch natürlich vorkommende, ätherlösliche Stoffe. Planta (Berl.) **30**, 160 (1939). — β-Indolacetaldehyd as a growth hormone in higher plants. Dansk Bot. Arkiv **11**, 11 (1944). — LINSER, H.: Über das Vorkommen von Hemmstoff in Pflanzenextrakten, sowie über das Verhältnis von Wuchsstoffgehalt und Wuchsstoffabgabe bei Pflanzen oder Pflanzenteilen. Planta (Berl.) **31**, 32 (1940). — Über den Einfluß von Pflanzenextrakten auf das Streckungswachstum, Wurzel- und Sproßbildung bei Pflanzen. Österr. bot. Z. **95**, 95 (1948). — MOEWUS, F.: Die Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Kressewurzel. Biol. Zbl. **68**, 58 (1949). — PAECH, K.: Über die „keimungshemmenden" Stoffe aus Früchten. Z. Naturforschg **4b**, 46 (1949). — POHL, R.: Die Wirkung von Wuchsstoff und Hemmstoff auf das Wachstum der Pollenschläuche von *Petunia*. Biol. Zbl. (im Druck). — POHL, R., u. B. TEGETHOFF: Der Hemmstoff des Maisskutellums ein Wuchsstoffinaktivator. Naturwiss. **36**, 319 (1949). — SCHWEIZER, G.: Einführung in die Kaltsterilisationsmethode. Jena 1937. — STEWART, W. S.: A plant growth inhibitor and plant growth inhibition. Bot. Gaz. **101**, 91 (1939). — STEWART, W. S., W. BERGEN and C. REDEMANN: A plant growth inhibitor. Science (Lancaster, Pa.) N. s. **89**, 185 (1939). — TANG, I. W., and BONNER: The enzymatik inactivation of indoleaceticacid. Some characteristics of the enzyme contained in pea seedlings. Arch. of Biochem. **13**, 11 (1947). — TEGETHOFF, B.: Zur Frage der Wuchsstoffinaktivierung im Maisskutellum. Planta (Berl.) **38**, 648 (1951). — VOSS, H.: Nachweis des inaktiven Wuchsstoffes, eines Wuchsstoffantagonisten und deren wachstumsregulatorische Bedeutung. Planta (Berl.) **30**, 252 (1939). — WENT, F. W.: Wuchsstoff und Wachstum. Rec. Trav. bot. néerl. **25**, 1 (1928a).

Dozent Dr. R. POHL, Freiburg i. Br., Botan. Institut der Universität.

Planta, Bd. 39, S. 126—153 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen.

ÜBER DIE DIFFERENZIERUNGSVORGÄNGE IN DER CRUCIFERENWURZEL.

Von

ERWIN BÜNNING.

Mit 28 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Dezember 1950.)

Einleitung.

Die vorliegende Untersuchung ging von der Absicht aus, einen Einblick in die Ursachen der Gewebedifferenzierung in der Wurzel zu gewinnen. Und zwar sollte ursprünglich vor allem die Differenzierung der Rhizodermis in Trichoblasten und gewöhnliche Epidermiszellen geklärt werden. Zwangsläufig wurde dabei die Aufmerksamkeit auch auf die Differenzierung in den übrigen Wurzelgeweben gelenkt. Dabei wurden wieder die Probleme der Bildung des Gefäßstrahlenmusters lebendig, die schon JOST aufgeworfen hat. Zur Untersuchung dienten Wurzeln von *Lepidium sativum* und *Sinapis alba*.

Die Samen keimten auf Filtrierpapier, das schräggestellte Glasplatten in Glasküvetten bedeckte. Die Anzucht erfolgte im Thermostaten bei 25°. Zur Anfertigung der Mikrotomschnitte wurde mit ZENKERS Gemisch fixiert und mit Hämatoxylin nach DELAFIELD gefärbt.

1. Der Bau der Wurzel.

Die Wurzeln von *Sinapis*, *Brassica*, *Lepidium* und anderen Cruciferen sind schon wiederholt Gegenstand anatomischer Untersuchungen gewesen (vgl. etwa v. GUTTENBERG, WAGNER, CORMACK).

An eine Zelle, die v. GUTTENBERG als Zentralzelle bezeichnet, stoßen bei *Sinapis* die jüngsten Teile des Periblems (Abb. 1). Das Periblem entsteht nicht etwa einfach durch fortgesetzte Teilung der Zentralzelle, sondern aus den Zellen des Zellkranzes, der die Zentralzelle umgibt. Die Zellen dieses Kranzes also sind als die eigentlichen Peribleminitialen anzusehen. Zwar entstehen auch sie natürlich durch die Tätigkeit der Zentralzelle, aber es bildet sich doch nicht jede dieser Zellen unmittelbar aus der Zentralzelle, vielmehr sieht man im Querschnittsbild in den Zellen dieses Kranzes oft radiale Wände, die anzeigen, daß wenigstens einige dieser Zellen aus Nachbarzellen des gleichen Kranzes hervorgehen (Abb. 2).

Der Zentralzelle sitzt eine zentrale Pleromreihe auf, in der man häufig Teilungen durch Querwände findet. Gegen die 3 Zellen dieser Reihe, die unmittelbar der Zentralzelle folgen, legt sich das Plerom. Für die Entstehung der Plerominitialen aus den Zellen der zentralen

Pleromreihe scheint dasselbe zu gelten wie für die eben beschriebene Entstehung der Periblemінitialen aus der Zentralzelle.

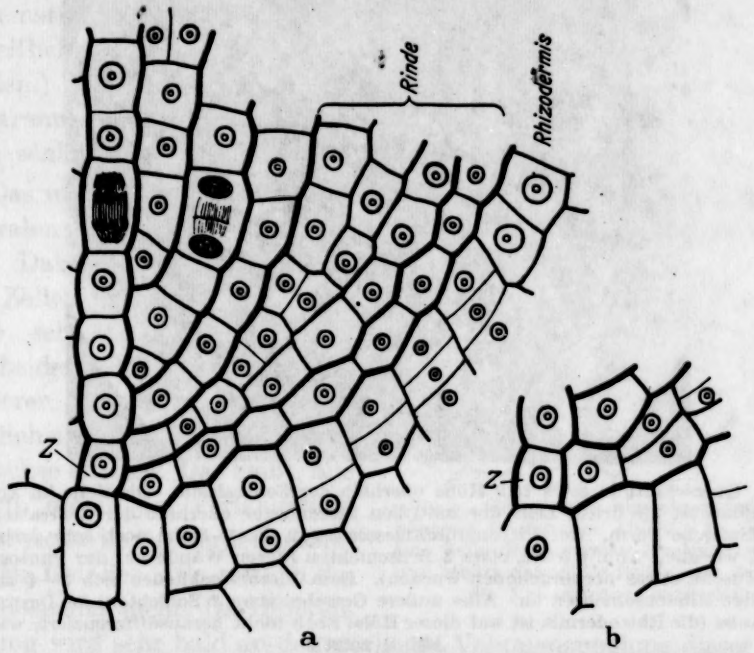


Abb. 1 a u. b. Mediane Längsschnitte durch die Wurzel von *Sinapis alba*. Die Unterschiede in den Zellwanddicken sind zur Erleichterung des Überblicks übertrieben worden. *Z* Zentralzelle. Die Figuren a und b geben zwei verschiedene Möglichkeiten des Übergangs von der Zentralzelle zum Periblem wieder. (Auch die Abb. 2—28 beziehen sich auf *Sinapis alba*.)

In der ausdifferenzierten *Sinapis*-Wurzel (die uns speziell beschäftigen wird) finden sich zwei Gefäßstrahlen und zwei Siebteile.

Aus dem Dermatogen gehen Haube und Rhizodermis hervor (Abb. 1). In der Rhizodermis zeigt sich die Differenzierung in Trichoblasten und gewöhnliche Zellen (Atrichoblasten). Trichoblasten und Atrichoblasten werden — im Gegensatz zu dem bei den Monokotylen üblichen Verhalten — nicht durch inäquale Teilungen voneinander getrennt.

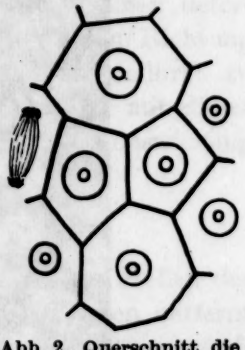


Abb. 2. Querschnitt, die Zentralzelle und links von ihr die Bildung einer radialen Wand zeigend.

2. Die Bildung der Gefäßstrahlen.

Die Untersuchung der *Sinapis*-Wurzel ergab folgende Resultate: Die Zellen der zentralen Pleromreihe können sich, wie erwähnt, durch Querwände teilen. Sie teilen sich regelmäßig auch durch Längswände, die aber wenigstens bevorzugt immer in ein und derselben Richtung liegen. Diese Zellen besitzen also eine Polarität, deren Achse mit einem

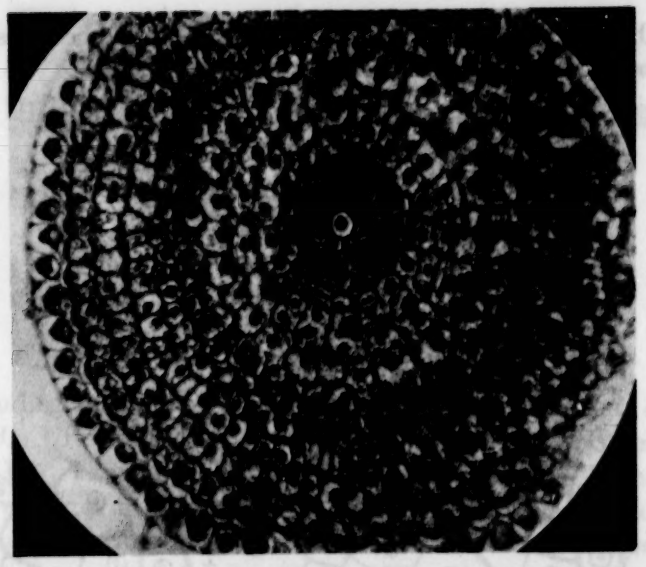


Abb. 3. Querschnitt in etwa 25 μ Höhe oberhalb der Zentralzelle. Die Zelle im Zentrum des Pleroms ist die dritte Zelle der zentralen Pleromreihe oberhalb der Zentralzelle; sie zeigt elliptische Form. Der Pleromdurchmesser ist in dieser Höhe noch sehr gering und umfaßt, wie auch Abb. 1 lehrt, etwa 3 Zellschichten (deren Wände auf der Photographie durch Tusche etwas hervorgehoben wurden). Dem Plerom schließen sich 3—4 ziemlich großzellige Rindenschichten an. Alles äußere Gewebe (etwa 7 Schichten) ist Dermatogen und Haube (die Rhizodermis ist auf dieser Höhe noch nicht herausdifferenziert, wie auch Abb. 1 zeigt).

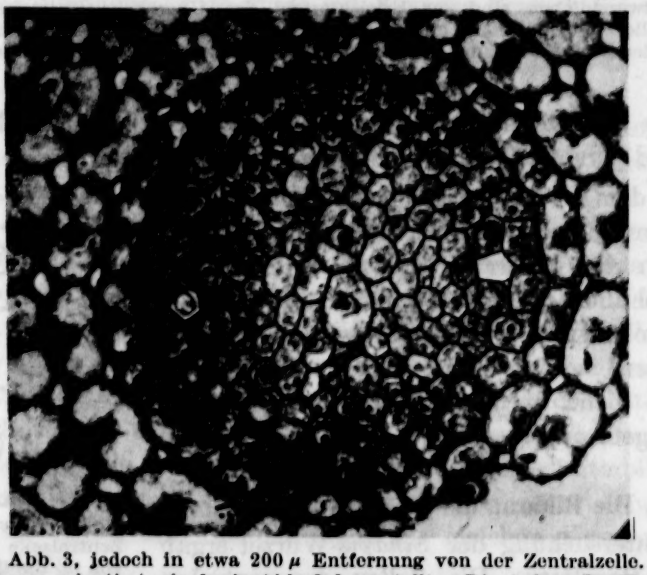


Abb. 4. Wie Abb. 3, jedoch in etwa 200 μ Entfernung von der Zentralzelle. Der Querschnitt ist ebenso orientiert wie der in Abb. 3 dargestellte. Die Anlage des Xylems (in der Senkrechten) wird deutlich. Links und rechts junge Stadien der Phloembildung mit den „Ursiebröhren" unmittelbar unter dem Perizykel.

der Wurzeldurchmesser übereinstimmt. Die Existenz dieser Polaritätsachse kommt nicht nur in der Bevorzugung einer Richtung bei der

Anlage der Längswände zum Ausdruck, sondern auch in der Gestalt der Zellen. Sie erscheinen nämlich im Querschnittsbild nicht kreisförmig, sondern elliptisch, wobei die längere Achse mit jener Polaritätsachse übereinstimmt. (Nur unmittelbar nach einer Teilung ist diese Achse begreiflicherweise kürzer, da ja die Wände senkrecht zu ihr angelegt werden.) Die so (ausschließlich oder bevorzugt) nach einer Richtung abgetrennten Zellen selber können sich in der gleichen Richtung, aber auch senkrecht zu ihr, weiter teilen (Abb. 3—5).

Das weitere Schicksal der so indirekt oder direkt aus den Zellen der zentralen Pleromreihe hervorgegangenen Pleromzellen ist unterschiedlich. Dabei fällt zuerst auf, daß jene Zellen der zentralen Pleromreihe sehr früh die Richtung der beiden Gefäßstrahlen determinieren. Diese Richtung stimmt nämlich mit der genannten Polaritätsachse überein. Das heißt, alle Zellen, die in der Verlängerung dieser Achse liegen, werden späterhin zu Gefäßen, alle seitlich davon liegenden nicht. Die Differenzierung wird sehr bald an der stärkeren Volumenzunahme dieser Zellen deutlich (Abb. 4). Man kann also schon in unmittelbarer Nähe der Wurzelspitze aus der Form der Zellen in der zentralen Pleromreihe erkennen, wie die Xylemstränge liegen werden. In etwa 100 μ Entfernung von der Zentralzelle wird die Entwicklung der Gefäßstrahlen selber schon sehr deutlich.

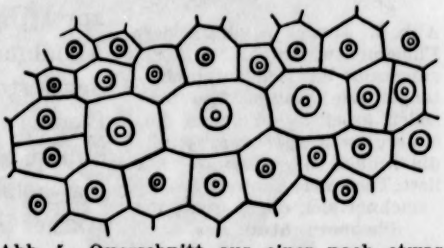


Abb. 5. Querschnitt aus einer noch etwas höheren Region als Abb. 4. In der Mitte eine Zelle der zentralen Pleromreihe. Links und rechts davon die Zellen, aus denen sich die Xylemstränge entwickeln.

Die Zellen der zentralen Pleromreihe üben demnach einen determinierenden Einfluß auf die in einer bestimmten radialen Richtung vor ihnen liegenden Pleromzellen aus und lassen diese dadurch zu den beiden Gefäßstrahlen werden. Wir werden uns später mit dieser nur in der Richtung der Polaritätsachse ausgeübten Induktionswirkung noch näher beschäftigen.

3. Die Bildung des Phloems.

Ein Phloem entwickelt sich bei *Sinapis* an den beiden Stellen des Pleroms, die am weitesten von den xylembildenden Platten entfernt sind. Und zwar treten die Anlagen der Siebteile deutlich später auf als die Anlagen der Gefäßstrahlen, obwohl es durchaus richtig ist, daß — wie mehrfach angegeben worden ist — fertig entwickelte Siebröhren näher an der Wurzelspitze zu finden sind als ausdifferenzierte Gefäße. Die Siebröhren werden also später angelegt, entwickeln sich aber rascher als die Gefäße.

Die Phloementwicklung beginnt damit, daß eine Zelle der dem Perizykel angrenzenden Pleromschicht größeren Plasmareichtum zu zeigen beginnt. Diese Zelle liegt immer einer radialen Wand des Perizykels an. Also Pleromzellen, die mit dem Perizykel nur eine tangentiale Wand gemeinsam haben, werden nie zur Ausgangszelle des Phloems. Bald nachdem diese Zelle durch intensive Färbbarkeit deutlich geworden ist, teilt sie sich inäqual durch eine perikline Wand. Die äußere dieser beiden Schwesterzellen wird zur „Ursiebröhre" und zeigt eine schnelle Abnahme ihrer Plasmamenge. Die innere Schwesterzelle hingegen zeigt zunehmendes Plasmawachstum (Abb. 6). Etwas später nimmt auch in der Nachbarschaft das Plasmawachstum zu, d. h. die Färbbarkeit wird stärker (Abb. 7). So entwickelt sich also ein Komplex von Siebröhren, von denen lediglich die erste (die vielleicht nur eine Siebzelle ist) bald plasmaarm wird, die übrigen aber ihr Plasmawachstum noch längere Zeit fortsetzen.

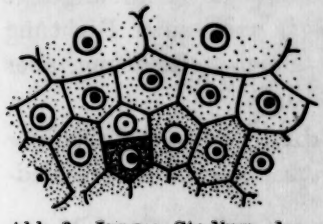


Abb. 6. Junges Stadium der Phloementwicklung. Die Ausgangszelle hat sich durch eine tangentiale Wand in 2 Tochterzellen geteilt, von denen die äußere zur „Ursiebröhre" wird, die schnell ihr Plasma verliert. Die innere Schwesterzelle zeichnet sich durch großen Plasmareichtum aus.

Die beschriebene Bildung der „Ursiebröhre" vollzieht sich in etwa 100 μ Entfernung von der Zentralzelle, oder auch noch früher. Fast ganz plasmafrei geworden ist sie in 200—300 μ Entfernung von jener Zelle (Abb. 4).

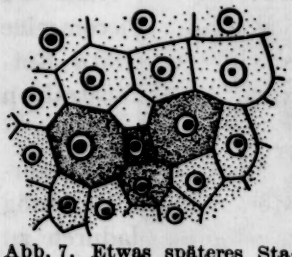


Abb. 7. Etwas späteres Stadium der Phloementwicklung, auch Nachbarzellen werden zu verstärktem Plasmawachstum und damit zur Teilnahme an der Phloembildung induziert.

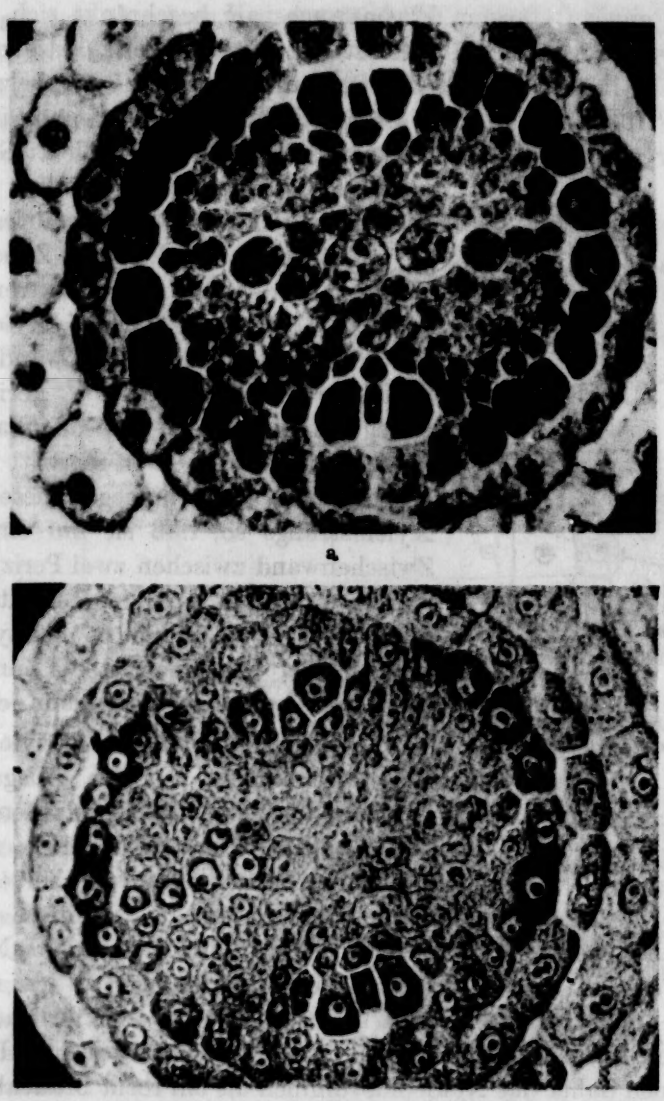
Der beschriebene Verlauf der Phloem- und Xylembildung fügt sich weitgehend dem Bild ein, das ESAU für die kompliziertere *Pirus*-Wurzel entworfen hat.

4. Die Wechselbeziehung der Anlagen von Xylem und Phloem mit dem Perizykel.

Der Ort der Ausbildung der Gefäßstrahlen ist, wie wir sahen, durch die radiale Polarität der Zellen in der zentralen Pleromreihe determiniert.

Wir können noch einen weiteren Beweis dafür erbringen, daß hier eine Induktionswirkung von Zelle zu Zelle in der Richtung der radialen Polaritätsachse vorliegt, und nicht etwa eine Determination durch eine bestimmte Teilungsfolge. Man kann bei *Sinapis* (deren Wurzeln auch beim Studium dieser Teilfrage allein genauer untersucht wurden) deutlich beobachten, daß sich die Induktionswirkung auf den Perizykel ausdehnt. Zwar werden die vor dem Xylemstrang liegenden Perizykelzellen natürlich nicht auch zu Gefäßen umgewandelt, aber in einer Hinsicht stimmt die Entwicklung dieses Perizykelteils doch mit der

Xylementwicklung überein: Es findet eine verstärkte Bildung von Protoplasma statt. Auch die Xylementwicklung beginnt ja damit, daß die an seinem Aufbau beteiligten Zellen verstärkt Protoplasma bilden, so



a

b

Abb. 8 a u. b. a Die jungen Xylemstränge zeichnen sich durch ihr großes Volumen und ihren Plasmareichtum aus. Im Perizykel vor den Xylemsträngen ist die große Plasmadichte deutlich, auch die Siebteile zeichnen sich durch dichtes Plasma aus, während der Perizykel vor den Siebteilen plasmaarm ist. In b sind die Kerne und Nukleoli deutlicher sichtbar.

daß sie sich von den übrigen Pleromzellen anfangs besonders durch ihre stärkere Färbbarkeit unterscheiden (Abb. 8). Erst später, während der langsamen Umwandlung zu den Gefäßen, schwindet der Plasmareichtum wieder. Bei der Induktion, die vom Zentrum in der Richtung zweier

einander gegenüberstehender Radien ausgeübt wird, handelt es sich also zunächst einmal um die Anregung zu starkem Plasmawachstum, und eben diese Induktion reicht deutlich bis in den Perizykel hinein. Diese Neuanregung zu starkem Plasmawachstum beschränkt sich nicht auf die unmittelbar vor dem Xylemstrang liegende Perizykelzelle, sondern breitet sich in tangentialer Richtung über mehrere Perizykelzellen hinweg aus (Abb. 8 und 9). Am stärksten aber ist die Anregung in den unmittelbar vor dem Xylemstrang liegenden Perizykelzellen. Gerade das verweist natürlich sehr deutlich auf eine Induktionswirkung. Besonders interessant ist es vielleicht noch, daß die Zunahme der Färbbarkeit des Plasmas am extremsten ist, wenn die äußerste Zelle des Xylemstrangs mit ihrer tangentialen Außenwand der tangentialen Innenwand einer Perizykelzelle anliegt (Abb. 9), wenn also offenbar die Bedingungen für den Stoffübertritt am günstigsten sind. Liegt hingegen diese Zelle des Xylemstrangs so, daß sie auf eine radiale Zwischenwand zwischen zwei Perizykelzellen stößt, so verteilt sich der Induktionseffekt gleichsam auf diese beiden Perizykelzellen, und in jeder von ihnen ist die Zunahme der Färbbarkeit dann geringer als in jenem Fall.

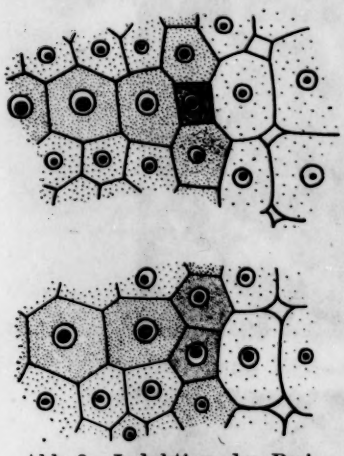


Abb. 9. Induktion des Perizykels zu neuer Protoplasmabildung bei unterschiedlicher Berührungsart zwischen Xylemstrang und Perizykel.

Gleichzeitig mit der Aktivierung des Plasmawachstums in den Ausgangszellen des Xylems und in den vor ihnen liegenden Perizykelzellen wachsen auch die Nukleoli in diesen Teilen. Das ist nicht so erstaunlich, weil wir wissen, daß die Nukleoli in enger Beziehung zur Eiweißvermehrung im Zytoplasma stehen. Jede Zunahme in der Synthese zytoplasmatischen Eiweißes äußert sich in der starken Zunahme der Nukleolusgröße, während die Nukleoli in Zellen ohne solche Synthese sehr klein sind oder gar unsichtbar sein können (vgl. die ausführlichen Untersuchungen von CASPERSSON, THORELL und die dort zitierte Literatur). Wir können daher das Nukleolusvolumen als ein recht brauchbares Maß für die Intensität das Plasmawachstum benutzen. Es sei betont, daß sich die genannte Parallelität für die verschiedensten Gewebebildungen in der Wurzel von *Sinapis* bestätigte. Wir wollen hier also nicht etwa einfach die Intensität des Plasmawachstums aus der Größe der Nukleoli ableiten, sondern gleichsam nur ein zahlenmäßiges Maß für den auch auf Grund der Beobachtung der Färbbarkeit erkennbaren Verlauf des Plasmawachstums gewinnen.

In Abb. 10 sind die Änderungen des Nukleolusvolumens in den Ausgangszellen des Xylems, in seinen Nachbarzellen (also in gewöhnlichen Pleromzellen) sowie im Perizykel vor dem Xylem und in dem vom Xylem am weitesten entfernten Perizykelteil dargestellt. Für die Gewinnung von jedem einzelnen Kurvenpunkt wurden mindestens 50 Nukleoli ausgemessen. Selbst eine wesentlich geringere Anzahl ausgemessener Nukleoli hätte aber schon vollständig genügt, um die gleich zu nennenden Gesetzmäßigkeiten zu demonstrieren, ja schon Einzelschnitte zeigen die

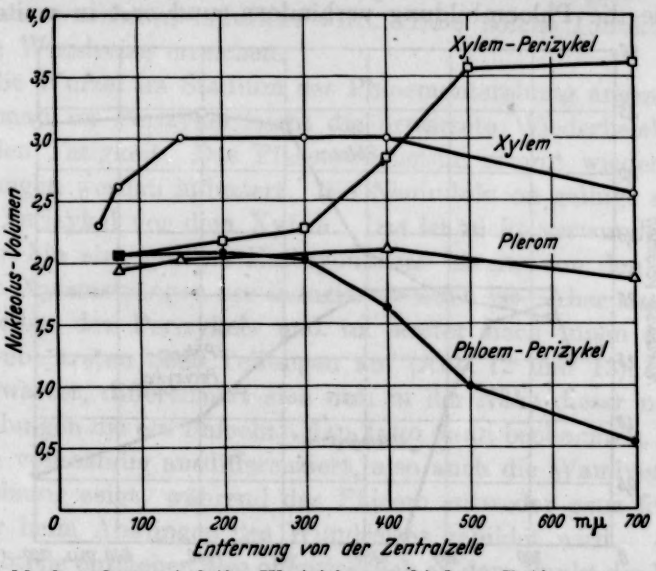


Abb. 10. Nukleolusvolumen (relative Werte) in verschiedener Entfernung von der Zentralzelle in den Zellen des jungen Xylems, des übrigen Pleroms sowie der vor dem Xylem und der vor dem Phloem liegenden Perizykelzellen.

Beziehungen deutlich (Abb. 8). Die Kurven (Abb. 10) lassen die Zunahme der Nukleolusgröße in den Ausgangszellen des Xylems erkennen, während in den gewöhnlichen Pleromzellen nur geringe Größenänderungen eintreten. Außerdem erkennen wir die starke Zunahme der Nukleolusgröße in den vor dem Xylem liegenden Perizykelzellen. In dem am weitesten vom Xylem entfernten Perizykelteil hingegen wird die rasche Abnahme der Nukleolusgröße deutlich. Die dargestellten Kurven entsprechen also vollkommen dem Bild zunehmender und abnehmender Färbbarkeit des Zytoplasmas.

Nebenher sei hier noch erwähnt, daß die Neuanregung des Plasmawachstums in dem Perizykelteil, der dem Xylem vorgelagert ist, natürlich in Beziehung steht zu der bekannten Beschränkung der Seitenwurzelbildung auf diesen Perizykelteil. Die Fähigkeit zur Seitenwurzelbildung hängt eben mit der Neuinduktion der „Embryonalität" zusammen.

Es ist nun weiterhin interessant, daß genau an der Stelle, an der das Plasmawachstum im Perizykel am geringsten ist, an der also die Nukleoli am kleinsten sind, das Phloem angelegt wird. Diese Beziehung legt eine Vermutung über die Determination des Orts der Phloembildung nahe: Es könnte sich so verhalten, daß das Phloem nur in einer bestimmten Entfernung von Orten lebhaften Plasmawachstums entstehen kann. Die plasmareichen Ausgangszellen für die Gefäßstrahlen ebenso wie der vor diesen liegende plasmareiche Teil des Perizykels würden danach in ihrer Nähe die Phloembildung verhindern, und erst in weiterer Ent-

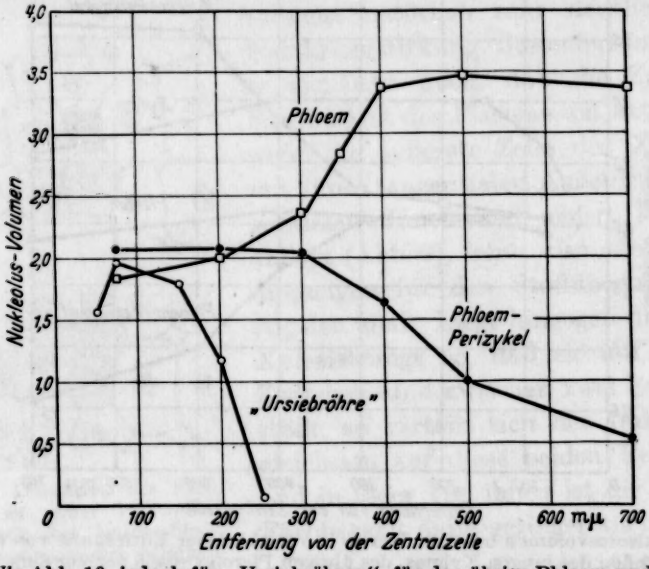


Abb. 11. Wie Abb. 10, jedoch für „Ursiebröhren", für das übrige Phloem und noch einmal für die vor dem Phloem liegenden Perizykelzellen.

fernung von ihnen würde die Phloembildung möglich sein. Man kann tatsächlich eine umgekehrte Proportionalität zwischen der Färbungsintensität im Perizykel und der (die Phloementstehung ankündigenden) Färbungsintensität in dem darunter liegenden Teil des Pleroms beobachten (Abb. 8).

Wenn wir wieder versuchen, diese Beziehungen zahlenmäßig auszudrücken, indem wir das Nukleolusvolumen als Maß benutzen, so finden wir eine enge Korrelation zwischen der Plasmavermehrung in dem sich entwickelnden Phloem und der Verringerung der Plasmadichte im Perizykel vor dem Phloem (Abb. 11).

Man könnte nun noch im Zweifel sein, ob wirklich so der Ort der Phloembildung determiniert wird, oder ob umgekehrt die Phloementwicklung das Plasmawachstum in dem vor ihm liegenden Perizykelteil unterdrückt. Gegen diese zweite Denkmöglichkeit spricht, daß so der Ort der Phloementstehung völlig unerklärbar bliebe. Aber es lassen

sich auch einige experimentelle Gründe zugunsten der erstgenannten Ansicht vorbringen.

Wenn wir annehmen, daß in der unmittelbaren Nachbarschaft eines Xylemstrangs kein Phloem entstehen kann, weil die Lebhaftigkeit des Plasmawachstums in diesem sich entwickelnden Strang und in dem vor ihm liegenden Perizykelteil das verhindert, so müßte man auch die Bildung des Phloems an dem normalen Ort seiner Entstehung unterdrücken können, sofern dort durch experimentelle Eingriffe ein lebhaftes Plasmawachstum induziert wird. Eine solche Induktion läßt sich durch Wundreize erreichen.

Wird die Wurzel im Stadium der Phloementstehung angeschnitten, so findet man im Perizykel leicht die erwartete Wiederbelebung der embryonalen Tätigkeit. Das Plasmawachstum nimmt wieder zu und neue Teilungen werden induziert. Die Neuinduktion gelingt am leichtesten im Perizykel vor dem Xylem. Das ist nicht verwunderlich, da hier ja ohnehin eine größere Embryonalität bereits von den sich entwickelnden Xylemsträngen her induziert worden ist. Aber auch in den übrigen Teilen des Perizykels und im weiter nach innen liegenden Pleromgewebe treten neue Teilungen auf (Abb. 12 und 13).

Wie erwartet, differenziert sich nun in der Nähe dieser neu induzierten Teilungen nie ein Phloem. Man kann dann beobachten, daß sich das Xylem vollständig ausdifferenziert, also auch die Wandversteifung und Verholzung zeigt, während das Phloem entweder ganz fehlt oder erst später beim Abklingen des Wundreizes gebildet wird.

Die Siebteile entstehen also offensichtlich an dem Punkt des Pleroms, der von den Orten lebhaften Plasmawachstums in den jungen Xylemsträngen und im Perizykel am weitesten entfernt ist; und der Grund für diese Lokalisierung muß, wie durch jenes Experiment gezeigt wird, in einer Unterdrückung der Phloementstehung durch diese halbembryonalen Orte gesucht werden.

Damit scheint sich die Bildung des Gefäßbündelmusters in der Wurzel einem allgemeinen Gesetz einzufügen, nach dem sich Orte lebhaften Plasmawachstums einander nicht über eine gewisse Mindestentfernung hinaus nähern können. Wir sind diesem Gesetz z. B. auch bei der Bildung des Spaltöffnungsmusters in der Epidermis begegnet (Bünning und Sagromsky).

Nach dieser Deutung wird auch verständlich, warum niemals zwei Siebteile etwa in unmittelbarer Nähe voneinander entstehen. Der Bereich der plasmaarmen Zone im Perizykel erstreckt sich ja über mehrere Perizykelzellen; es wäre unbegreiflich, warum genau nur an einem Punkt die für die Phloembildung notwendigen Bedingungen gegeben sein sollten. Das heißt wir müssen annehmen, daß dort, wo einmal die „Ursiebröhre" entstanden ist, diese aktiv die Entstehung

weiterer solcher „Ursiebröhren" verhindert. Das wäre aber wiederum ein Fall jener Unterdrückung der Bildung eines Orts lebhafter Plasmasynthese durch einen schon vorhandenen Ort solchen embryonalen

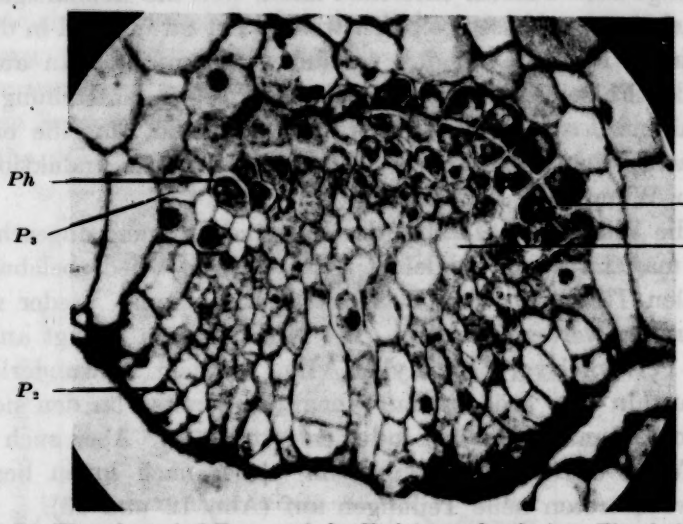


Abb. 12. Die Wurzel wurde 2 Tage nach der Verletzung durch einen Einschnitt untersucht. Der Einschnitt reichte bis zu dem im Bild nach unten gerichteten Perizykelteil. Ein Gefäßstrahl (×) ist fast ausdifferenziert, vor ihm sind im Perizykel neue Teilungen durch perikline Wände (z. B. bei P_1) aufgetreten. Auch links unten sieht man in den an den Wundrand grenzenden Perizykelzellen neue Teilungen (P_2). Der zwischen diesen beiden Abschnitten liegende Perizykelteil (P_3) zeigt keine neue Teilungen. Unter dem letztgenannten Perizykelabschnitt findet sich ein schwach ausgebildetes Phloem (*Ph*). Das normalerweise gegenüberliegende, also rechts unten zu erwarten gewesene Phloem fehlt.

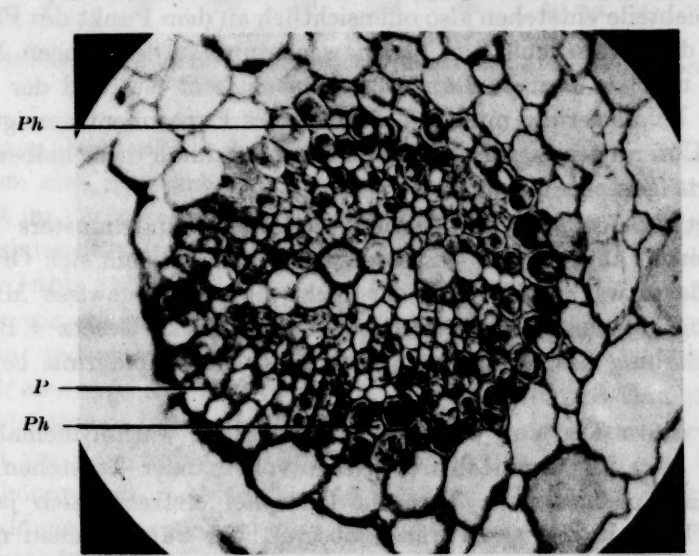


Abb. 13. Ähnlich wie Abb. 12, aber der Schnitt entfernte nur Rindengewebe. Im Perizykel sind vor den Gefäßstrahlen und etwas seitlich von diesen neue Teilungen sichtbar (z. B. bei *P*). Oben und unten je ein Phloem (*Ph*), dessen Entwicklung so stark hinausgezögert worden ist, daß es sich jetzt etwa auf dem in Abb. 9 dargestellten Entwicklungsstadium befindet, obwohl die Gefäßstrahlen schon ausdifferenziert sind.

Wachstums. Auch diese Konsequenz ließ sich experimentell prüfen: Wenn ein Einschnitt ein gerade angelegtes Phloem zerstörte, so ent-

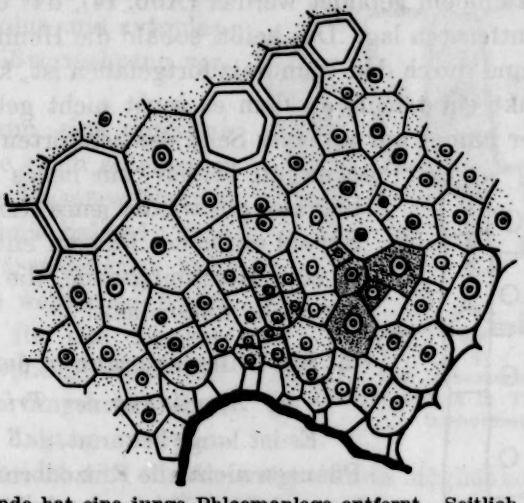


Abb. 14. Eine Wunde hat eine junge Phloemanlage entfernt. Seitlich neben der Wunde entsteht ein neues Phloem.

Abb. 15. In einer durch einen Längsschnitt aufgeteilten Wurzel verblieb in dem abgebildeten Stück nur Haubengewebe (4 Schichten), Dermatogen (zum Teil mit den zur Haubenbildung führenden Teilungen), Rindengewebe und einige Perizykelzellen. Durch die Regeneration ist schon ein ansehnlicher Gewebekomplex gebildet worden, in dem aber noch sämtliche Differenzierungen fehlen. Der Vergleich mit dem übrigen Wurzelkörper ergab, daß hier normalerweise ein Siebteil gebildet worden wäre. Im Plerom dieser Dimension ist sonst schon die Differenzierung sehr weit vorangeschritten.

stand zwar zunächst (wie sich aus dem weiter oben Gesagten ergibt) überhaupt kein Phloem. Ebenso bildet sich auch in Zentralzylindern, die durch Regenerationen entstehen, zunächst kein Phloem (Abb. 15).

Wenn aber die Neubelebung des Plasmawachstums durch den Wundreiz abgeklungen war, konnte in der Nähe des ursprünglichen Phloemorts ein neues Phloem gebildet werden (Abb. 14), das dann also etwas seitlich vom entfernten lag. Das heißt, sobald die Hemmung durch das erste Phloem und durch den Wundreiz fortgefallen ist, kann ein Phloem an einem Punkt entstehen, an dem es sonst nicht gebildet wird. Es wird dann aber immer nur an *einer* Seite des zerstörten Phloems, nicht etwa an beiden ein neues gebildet. Auch hier also gilt wieder jenes Hemmungsprinzip: Sobald ein neues Phloem entsteht, induziert es eine Hemmungszone, die ein weiteres in der Nähe ausschließt.

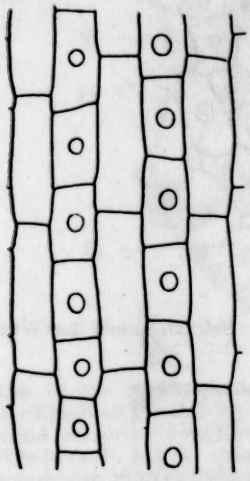


Abb. 16. Differenzierung der Rhizodermis in Trichoblasten und Atrichoblasten. Die Trichoblasten sind kürzer, die Ansätze der Wurzelhaare wurden durch Kreise gekennzeichnet.

5. Die Differenzierung in der Rhizodermis.

a) Anordnung der Trichoblasten.

Es ist lange bekannt, daß bei den meisten Pflanzen nicht alle Rhizodermiszellen Wurzelhaare bilden, vielmehr bald eine Differenzierung zu gewöhnlichen Rhizodermiszellen und Trichoblasten erfolgt. Diese Differenzierung vollzieht sich bei manchen Wurzeln (namentlich bei Farnen und Monokotyledonen) im Zuge einer inäqualen Teilung, bei anderen Arten unabhängig von Teilungen (vgl. CORMACK 1949).

Bei *Lepidium* und *Sinapis* stehen die Wurzelhaare, ebenso wie auch bei vielen anderen Arten, in Längsreihen, d. h. es alternieren jeweils ein bis zwei Reihen von haartragenden Rhizodermislängsreihen mit etwa ein bis drei haarlosen Längsreihen (Abb. 16). Betrachtet man das Querschnittsbild, so findet man, wie auch schon CORMACK (1947) fand, sehr schnell den Ansatzpunkt für eine Erklärung dieses Alternierens. Die Wurzelhaare entstehen nämlich jeweils dort, wo die Rhizodermis einer antiklinen Wand der äußersten Rindenschicht aufsitzt, oder doch (in Ausnahmefällen) einer solchen Wand wenigstens unmittelbar genähert ist (Abb. 17, 18 und 20).

Die Zellen der Längsreihen, aus denen die Wurzelhaare entstehen, zeigen halbembryonale Eigenschaften, und zwar sowohl durch ihr starkes Plasmawachstum, als auch durch die erhöhte Teilungsfähigkeit. Im Gegensatz zu den haarlosen Nachbarzellen teilen sie sich mindestens noch einmal in zwei übereinander stehende Zellen, so daß also diese Längsreihen wenigstens doppelt so viele Zellen enthalten wie die benachbarten. Oft aber ist die Teilungstätigkeit noch stärker. Außerdem sind

in den Trichoblasten die Zellkerne und die Nukleolen größer. Das größere Nukleolusvolumen ist uns ja schon auf Grund der weiter oben besprochenen engen Beziehung zwischen Nukleolus und zytoplasmatischer Eiweißvermehrung verständlich.

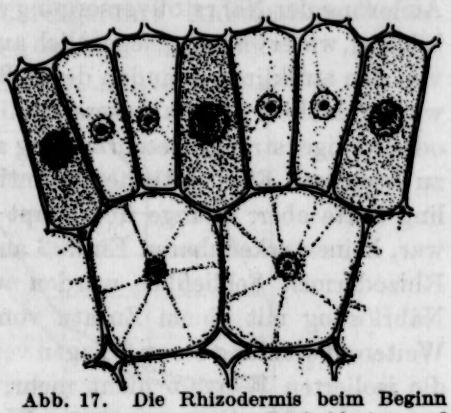


Abb. 17. Die Rhizodermis beim Beginn der Differenzierung in Trichoblasten und Atrichoblasten.

Wie kann nun eine antikline Wand der Rinde einen so starken Einfluß auf das Plasmawachstum in der Rhizodermis haben? Zwei Möglichkeiten wären denkbar: Entweder der Zelle werden so Stoffe zugeführt, die für das Plasmawachstum notwendig sind, oder es wird gerade umgekehrt einer Hemmung der Zugang verwehrt. Cormack entscheidet sich für die erstgenannte Möglichkeit. Er meint, durch die Interzellularen und Zellwände würden den Trichoblasten Nahrungsstoffe zugeführt. Aber wenn es auch wahrscheinlich ist, daß in den Zellwänden ein Transport von Wasser und Nährsalzen stattfindet, so ist doch eine Wanderung organischer Nährstoffe durch die Wände über größere Strecken hinweg kaum anzunehmen. Vor allem kompliziertere Verbindungen dürften doch leichter von Zelle zu Zelle durch die Plasmodesmen transportiert werden. Zudem ist gar nicht einzusehen, daß ein solcher Transport durch Interzellularen hindurch erleichtert sein soll. Diese Interzellularen sind nicht etwa mit Wasser, sondern mit Luft gefüllt. Gerade also die Tatsache, daß die Trichoblasten immer über einem Interzellularraum stehen (Abb. 17 und 18), spricht eher gegen als für die Ansicht von Cormack. Der Interzellularraum wird immer zur gleichen Zeit deutlich, in der auch die Differenzierung zu gewöhnlichen Rhizodermiszellen und Trichoblasten erkennbar wird. Dieser Raum vergrößert sich weiterhin erheblich, gibt also der Zelle eine isolierte Position. Unter den übrigen Rhizodermiszellen entstehen solche Interzellularen erst später, sie bleiben außerdem kleiner. Es dürfte somit aus dem anatomischen Bild deutlich werden, daß die Trichoblasten dort entstehen, wo zuerst eine Isolierung vom inneren Gewebe auftritt.

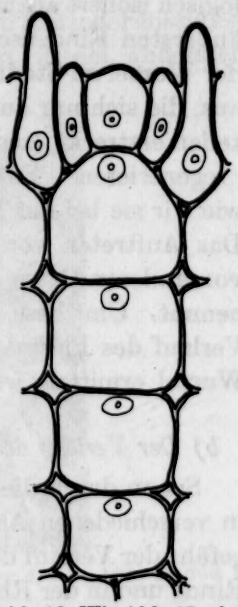


Abb. 18. Wie Abb. 17, aber in einem älteren Stadium. Die Wurzelhaare beginnen auszuwachsen.

Um aber die von CORMACK herangezogene Möglichkeit ganz ausschließen zu können, wurde auch versucht, die Wurzelhaarbildung durch Änderung der Nährstoffversorgung zu modifizieren. Da die Wurzelhaarbildung, wie erwähnt, gelegentlich auch noch in einer geringen Entfernung von den antiklinen Wänden der äußersten Rindenschicht erfolgen kann, war es denkbar, durch unterschiedliche Nährstoffversorgung eine mehr oder weniger strenge Beschränkung auf die Nähe dieser antiklinen Wände zu erreichen. Eine weitgehende Entfernung des Nährgewebes vom Keimling hatte aber, solange überhaupt noch ein Wurzelwachstum möglich war, keinen erkennbaren Einfluß auf die Art der Differenzierung in der Rhizodermis. Schließlich wurden auch isolierte Wurzeln in KNOPsche Nährlösung mit einem Zusatz von 2% Glukose übertragen und die Weiterentwicklung bis zu 3 Tagen verfolgt. Ohne Glukosezusatz wuchsen die isolierten Wurzeln nicht mehr, und schon nach wenigen Stunden entstanden dann keine weiteren Wurzelhaare. Mit Glukosezusatz aber verlief die Differenzierung ebenso wie in der normalen Wurzel, obwohl die Nährstoffzufuhr jetzt doch wenigstens nicht mehr ausschließlich auf dem Weg über die Rindenzellen erfolgte.

Wir müssen also annehmen, daß die Rhizodermiszellen als physiologisch isoliert anzusehen sind, sofern sie über einer antiklinen Wand der äußersten Rindenschicht stehen. Offensichtlich übt das innere Gewebe der Wurzel im Stadium der Entstehung der Trichoblasten eine Hemmung aus, die sich nur auf die direkt radial vor ihnen liegenden Rhizodermiszellen erstreckt, und daher nur diese daran hindert, zu Trichoblasten zu „regenerieren". Es könnte sich also um eine ähnliche Beziehung handeln, wie wir sie bei der Entstehung der Siebteile als wichtig erkannt haben: Das Auftreten von Orten lebhaften Plasmawachstums wird vielleicht von anderen Orten lebhaften Plasmawachstums (im Wurzelinneren) gehemmt. Um diese Möglichkeit zu prüfen, mußte zunächst einmal der Verlauf des Plasmawachstums in den in Frage kommenden Teilen der Wurzel ermittelt werden.

b) Der Verlauf des Plasmawachstums in der Rinde und Rhizodermis.

Schon durch die unterschiedliche Färbbarkeit der einzelnen Gewebe in verschiedenen Abständen von den Vegetationspunkten läßt sich ungefähr der Verlauf des Plasmawachstums beurteilen. Da sich auch in der Rinde und in der Rhizodermis wieder deutlich die schon im vorhergehenden Abschnitt genannte Beziehung zwischen Plasmawachstum und Nukleolusgröße ergab, wurde auch hier das Nukleolusvolumen benutzt, um die Lebhaftigkeit der Plasmasynthese zahlenmäßig auszudrücken.

In den Trichoblasten wachsen die Nukleoli, sobald sich diese Zellen von den gewöhnlichen Rhizodermiszellen zu unterscheiden beginnen. Nun wurde die Größe der Nukleoli in der Rinde und in den beiden

Typen von Rhizodermiszellen, also in den Trichoblasten und in den Atrichoblasten bestimmt. Diese Messungen wurden mit gleichartigem Ergebnis bei *Sinapis* und *Lepidium* durchgeführt. Auf die Einzelheiten soll hier nur für *Sinapis* hingewiesen werden (Abb. 19).

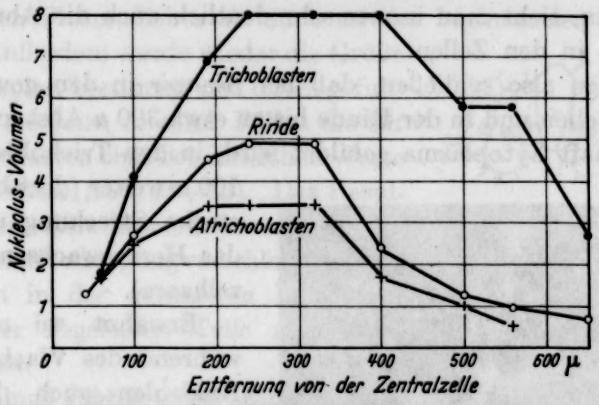


Abb. 19. Nukleolusvolumen in der Rhizodermis und in der äußersten Rindenschicht in verschiedenen Abständen von der Zentralzelle.

In etwa 200 μ Entfernung von der Initialenregion haben die Nukleolen ihr größtes Volumen erreicht, das in den gewöhnlichen Rhizodermiszellen und in der innersten Rindenschicht am niedrigsten, in der äußersten

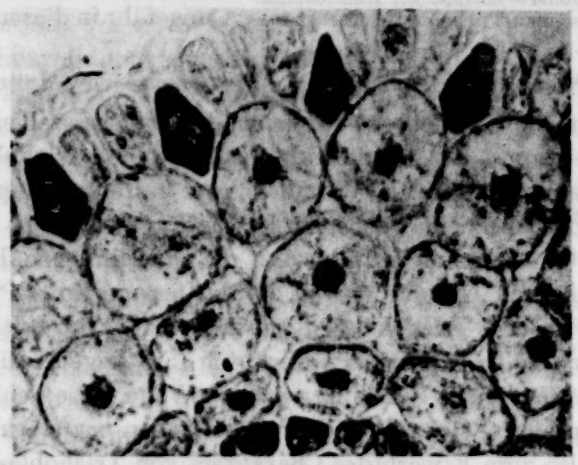


Abb. 20. Ein Entwicklungsstadium der Rhizodermis, das zwischen den in Abb. 17 und 18 dargestellten liegt.

Rindenschicht etwas größer, in den Trichoblasten am größten ist. Bei etwa 300 μ Entfernung von der Zentralzelle nimmt der Durchmesser der Nukleolen in der Rinde und in den gewöhnlichen Rhizodermiszellen wieder ab, in den Trichoblasten erfolgt diese Reduktion erst in einer Region, die etwa 100 μ höher liegt.

Sobald die Unterschiede in der Nukleolusgröße deutlich werden (bei etwa 100 μ Entfernung von der Zentralzelle), zeigt sich auch die unterschiedliche Färbbarkeit und damit die beginnende anatomische Differenzierung der beiden Zelltypen in der Rhizodermis. Wo die Nukleolen kleiner werden, sieht man immer sehr deutlich auch die Abnahme der Plasmadichte in den Zellen.

Wir können also schließen, daß bei *Sinapis* in den gewöhnlichen Rhizodermiszellen und in der Rinde bis zu etwa 300 μ Abstand von den Initialen lebhaft Zytoplasma gebildet wird, in den Trichoblasten etwa 100 μ weiter (dort beginnt die starke Streckung und damit das Herauswachsen der Wurzelhaare).

Abb. 21. Eine isolierte Gruppe der Rhizodermis. Alle Zellen gewinnen Trichoblastencharakter.

Erwähnt sei noch, daß während des Wachstums der Nukleolen auch die Kerne wachsen, und zwar ungefähr im gleichen Verhältnis. Das Nukleolenvolumen beträgt in den jüngsten Regionen etwa 12—15% des Kernvolumens und bleibt in den meisten Zellen ungefähr in diesem Verhältnis.

c) Experimentelle Isolierung der Rhizodermis vom Innengewebe.

Wir sahen, daß in den gewöhnlichen Rhizodermiszellen und in der Rinde im Zeitpunkt der Herausdifferenzierung der Trichoblasten noch ein Plasmawachstum erfolgt. Vor allem aber besteht zu dieser Zeit noch ein sehr intensives Plasmawachstum im Plerom. Damit ist eine Voraussetzung für die Annahme erfüllt, daß die gewöhnlichen Rhizodermiszellen vom inneren Gewebe an der Reaktivierung ihres Plasmawachstums zu der in den Trichoblasten beobachtbaren Intensität gehindert werden. Nur die Trichoblasten sind durch ihre Lage genügend isoliert und können daher nicht gehemmt werden. Wenn diese Schlußfolgerung richtig ist, müßten sich alle Rhizodermiszellen zu starkem Plasmawachstum, also zum Erwerb des Charakters von Trichoblasten zwingen lassen, wenn sie vom inneren Gewebe experimentell isoliert werden.

Um diese Möglichkeit zu prüfen, wurden an jungen Wurzeln mit Splittern von Rasierklingen kurze Längsschnitte angebracht, die die Rhizodermis vom Innengewebe trennten. Die abgelösten Teile blieben dem übrigen Wurzelkörper eng angelegt, so daß eine, wenn auch zweifellos reduzierte Nährstoffversorgung möglich blieb. 6—12 Std später wurden die Wurzeln fixiert und Querschnitte angefertigt. In mehreren

Fällen trat das erwartete Resultat ein: In der Rhizodermis standen die Zellen vom Trichoblastencharakter nicht mehr vereinzelt, sondern im ganzen isolierten Bezirk konnten sich alle Rhizodermiszellen zu Trichoblasten umwandeln. Diese Umwandlung zeigte sich sowohl an der zunehmenden Plasmadichte als auch an der beginnenden Streckung der Zellen. Außerdem wurde wieder die Größe der Nukleolen bestimmt und dabei gefunden, daß sie jetzt in allen Fällen die für die Trichoblasten charakteristischen Werte erreicht hatten (Abb. 21—23). Das Resultat ist besonders bemerkenswert, weil ja die Nährstoffversorgung verschlechtert war und auch in der geringeren Längenzunahme der abgelösten Teile zum Ausdruck kam.

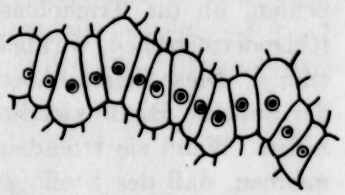


Abb. 22. Die gleiche Gruppe wie in Abb. 21, die einheitliche Größe der Nukleoli zeigend (vgl. dazu die Unterschiede in der normalen Rhizodermis, z. B. Abb. 20).

Allerdings führte dieser Eingriff nicht in allen Fällen zum Erfolg. Offenbar muß die Isolierung in einem ganz bestimmten Zeitpunkt erfolgen, nämlich in dem Augenblick, in dem die Determination gerade bevorsteht. Erfolgt der Eingriff später, so ist die Determination schon vollzogen und die Rhizodermiszellen ohne Wurzelhaare sind schon zu alt geworden, um noch sekundär zur Wurzelhaarbildung schreiten zu können. Erfolgt dagegen der Eingriff zu früh, also unmittelbar am Vegetationspunkt, so tritt zu leicht ein Absterben der Zellen ein. Auch die Durchmusterung der ganzen Schnittreihen zeigte, daß der genannte Erfolg nur in der Region eintritt, in der normalerweise gerade die Trichoblastenbildung beginnt. Ein vorzeitiges Absterben tritt auch dann ein, wenn der Schnitt zu lang ist und damit die Nährstoffzufuhr vom Samen zu sehr beeinträchtigt wird.

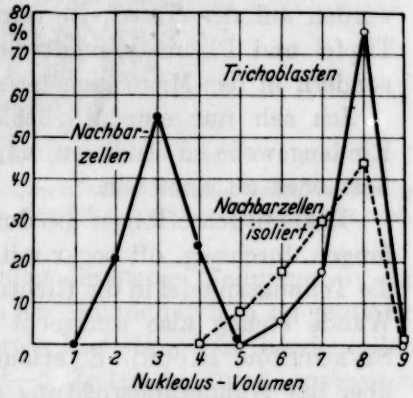


Abb. 23. Prozentuale Häufigkeit bestimmter relativer Nukleolusgrößen in den Trichoblasten und in ihren Nachbarzellen, letztere sowohl für die normale Wurzel als auch für die vom Zentralzylinder isolierte Rhizodermis.

Nun kann man dieses Ergebnis allerdings auch durch die Annahme deuten, der Wundreiz bedinge eine direkte Stimulation des Plasmawachstums in allen Rhizodermiszellen und lasse sie aus diesem Grunde alle zu Trichoblasten werden. Die Möglichkeit läßt sich durch folgende Beobachtung weitgehend ausschließen: Werden Schnitte angebracht, die einen Teil der Rhizodermis verletzen und dadurch in den benachbarten Rhizodermiszellen neue Teilungen verursachen, so bilden sich

diese Zellen trotzdem nicht zu Trichoblasten um, sofern die Wunde radial geführt ist, also die Rhizodermis nicht vom Innengewebe isoliert.

d) Nachweis der physiologischen Isolierung der normalen Trichoblasten.

Um das gewonnene Bild abzurunden, war es noch notwendig, zu prüfen, ob die Trichoblasten bzw. die zu Trichoblasten werdenden Rhizodermiszellen wirklich in einer physiologisch isolierten Position stehen. Diese Zellen haben ja trotz der Lage auf einer antiklinen Wand der äußeren Rinde ziemlich große Berührungsflächen mit den Rindenzellen. Wenn sie trotzdem physiologisch isoliert sind, müssen wir annehmen, daß der Stoffaustausch von den Rindenzellen zu den Rhizodermiszellen am besten in radialer Richtung erfolgt, die Transportmöglichkeiten von einer Rindenzelle zu den mehr seitlichen Richtungen nach links und rechts, wo die künftigen Trichoblasten sitzen, aber ungünstiger sind. Eine solche Möglichkeit enthält nichts Unwahrscheinliches. Zwar könnten Wasser und Nährsalze, wohl auch Zucker und manche andere Substanzen leicht durch die Zellwände zu den Trichoblasten gelangen, aber komplizierte Verbindungen wie z. B. Hormone werden auf den Transport durch die Plasmodesmen angewiesen sein. Tüpfel und Plasmodesmen pflegen aber nicht am Rande der Zellen, sondern in der Mitte gemeinsamer Zellwände zu stehen.

Ich sah nur eine Möglichkeit, die Wege des Stofftransports im Rindengewebe zu studieren, nämlich die Transportrichtung von Wundhormonen zu ermitteln.

Bekanntlich erfolgen die durch Wundhormone neu induzierten Teilungen durchweg, oft sogar mit erstaunlicher Genauigkeit so, daß sich die Teilungsspindel in die Richtung zur Wunde hin orientiert. Die neuen Wände stehen also senkrecht zum Gefälle der Wundhormone (vgl. Sinnott und Bloch). So erlaubt die Lage der neuen Wände ein Urteil über die Wanderungsrichtung der Wundhormone.

Zur Anwendung dieser Erkenntnis, die sich bei meinen Versuchen bestätigte, wurden Wurzeln durch Längsschnitte verletzt und einen Tag später fixiert. Der Erfolg war recht verschieden. In einigen Fällen zeigten sich nur in unmittelbarer Nähe der Wunde Teilungen, gelegentlich waren aber die neu induzierten Teilungen auch weit im Innern der Wurzel. Nur in diesen letzteren Fällen konnten die Objekte zur Ermittlung des Wanderwegs der Wundhormone benutzt werden.

Die stärkste Wundteilung zeigte sich im Zentralzylinder, der sich infolge dieser Teilungen sehr bald aus der Schnittfläche heraus vorwölbte und wieder abrundete (Abb. 15). Aber auch die Rinde und die Rhizodermis konnten in der Nähe des Vegetationspunktes wieder zu neuen Teilungen veranlaßt werden. Die Teilungen im Zentralzylinder und in der Rinde waren, wie erwartet, parallel zur Wundfläche. Das

heißt senkrecht unter der Wunde zeigten sich perikline Teilungen, die sich auch durch mehrere Rindenschichten hindurch bis zum Zentralzylinder fortsetzen konnten. In den links und rechts seitlich von der Wunde liegenden Rindenzellen mußten die Teilungen, um zur Wundfläche parallel zu sein, natürlich antiklin erfolgen. Auch das traf zu (Abb. 24). In den Rhizodermiszellen lagen die neuen Wände, sofern diese Zellen in der Nähe der Wunde waren, ebenfalls parallel zum Wundrand, waren also je nach Orientierung dieser Zellen zur Wunde entweder

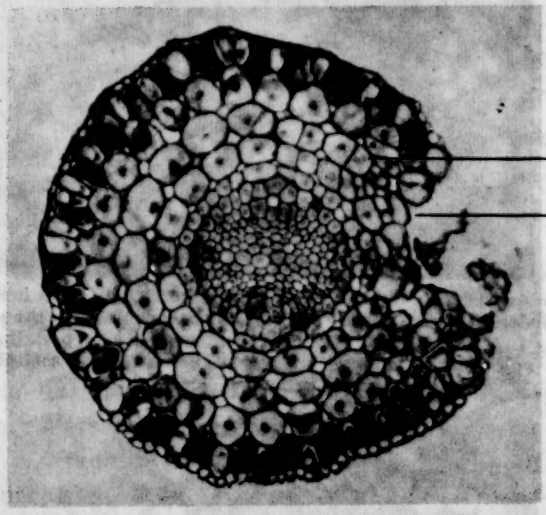


Abb. 24. In einer verletzten Wurzel sind neue Teilungen aufgetreten, bei denen die Wände in der Regel parallel zur Wundfläche verlaufen, also bei *p* periklin, bei *a* antiklin sind.

antiklin oder periklin. Die Lokalisierung der neuen Teilungen in der Rinde ließ deutlich erkennen, daß sich der Wundeinfluß in tangentialer Richtung, also von einer zur benachbarten Radialreihe der Rindenzellen gehend, durch mehrere, oft durch 4—5 Zellen hindurch ausbreiten konnte (Abb. 25 und 26). Das heißt also, eine Stoffwanderung in der Rinde ist in tangentialer Richtung ohne weiteres möglich. Jedoch gilt das nur für die mittleren und inneren Rindenschichten. In der äußersten Rindenschicht traten radiale neue Wände nur in unmittelbarer Nähe der Wunde auf; mindestens ebenso häufig waren hier Teilungen durch tangentiale Wände. Man darf also schließen, daß die Wundhormone zu diesen Zellen der äußeren Rinde leichter aus den sich nach innen anschließenden Zellen gelangen als aus der benachbarten Radialreihe.

So wie nun die Zellen der äußersten Rindenschicht durch ihre innere Tangentialwand leichter einen Stoffaustausch mit der Nachbarschaft bewerkstelligen können als durch ihre Radialwände, sind offenbar auch die äußeren tangentialen Wände für einen solchen Transport mehr geeignet. Auch das läßt sich wieder aus dem Weg der Wundhormone

erschließen. Innerhalb der Rhizodermis kann ein Transport von Wundhormon in seitlicher Richtung, d. h. von einer Rhizodermiszelle zur

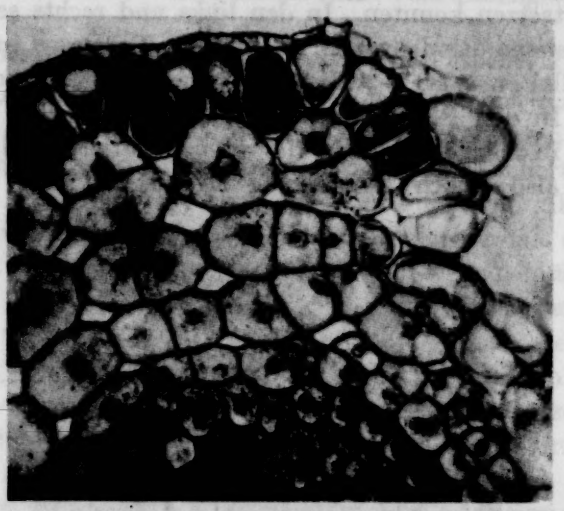


Abb. 25. Teil einer verletzten Wurzel. Man sieht neue Teilungen in der Rinde, die in den drei inneren Rindenschichten einen Wundhormontransport in tangentialer Richtung erkennen lassen. In der äußersten Rindenschicht zeigen sich perikline Wände, die auf einen Transport von Wundhormonen aus dem inneren Teil in radialer Richtung nach außen schließen lassen.

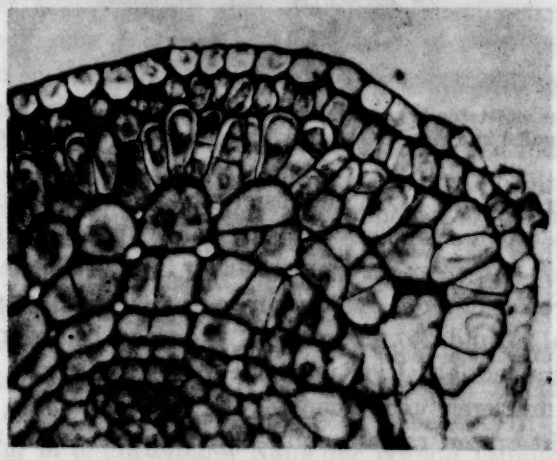


Abb. 26. Ähnlich wie Abb. 25, aber in einem noch jüngeren Wurzelabschnitt (außen noch 2 Schichten der Wurzelhaube). Die neuen Teilungen in der Rinde sind ähnlich wie in Abb. 25. Auch in der Rhizodermis sind neue Teilungen aufgetreten, die auf einen Wundhormontransport von der Rinde in radialer Richtung zur Rhizodermis hindeuten. In dem ganz rechts liegenden Teil der Rhizodermis (wo diese nach unten herabgedrückt ist) hat sich eine ihrer Zellen durch eine Längswand geteilt, da sie, ihrer Position entsprechend, offensichtlich durch ihre Seitenwand hindurch von der darunterliegenden toten Nachbarrhizodermiszelle mit Wundhormon versorgt worden ist.

benachbarten offenbar fast gar nicht stattfinden, denn ein direkter Transport von Wundhormon von den verletzten Zellen ließ sich nur bis zur unmittelbar benachbarten Rhizodermiszelle nachweisen. Dagegen

war eine Neuinduktion von Teilungen auch in der Rhizodermis sehr wohl möglich, wenn das Wundhormon von den Rindenzellen zu ihnen gelangte (Abb. 26). Wenn nun die Trichoblasten von der äußersten Rindenschicht physiologisch vollständig isoliert wären, dürfte man überhaupt keinen Transport von Wundhormon aus der äußeren Rindenschicht zu ihnen erwarten. Das traf aber nicht zu. In den Trichoblasten traten jedenfalls in älteren Teilen der Wurzel ebensogut Teilungen auf wie in den gewöhnlichen Rhizodermiszellen. In den ältesten Regionen der Wurzel, in denen noch gerade eine Neuinduktion von Teilungen durch die Verwundung zu beobachten war, zeigten sich sogar mehr Teilungen in den Trichoblasten als in den gewöhnlichen Rhizodermiszellen. Daraus darf aber nicht auf eine bessere Versorgung der Trichoblasten mit Wundhormon, sondern nur auf ihre größere Teilungsfähigkeit geschlossen werden. Die gewöhnlichen Rhizodermiszellen lassen sich in dieser Region auch durch unmittelbar benachbarte Wunden nicht mehr zu Teilungen zwingen. In jüngeren Teilen der Wurzel, in denen auch die gewöhnlichen Rhizodermiszellen noch gut teilbar sind, traten, wie erwartet, in den Trichoblasten weniger Teilungen auf als in den gewöhnlichen Rhizodermiszellen.

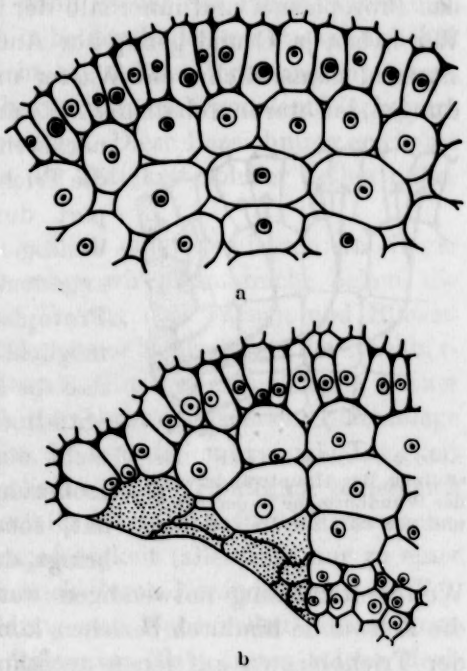


Abb. 27 a u. b. a Normale Lage der Kerne in der Rhizodermis (und im anstoßenden Rindenteil). Die Kerne liegen in der Rhizodermis meist im Schwerpunkt der Zelle. b Traumatotaktische Kernverlagerung in der Rhizodermis. Die Kerne der Atrichoblasten werden in der Regel stärker verlagert als die der Trichoblasten (punktiert: tote Zellen).

Um den Wanderweg der Wundhormone von der äußeren Rinde zur Rhizodermis zu verfolgen, erwies es sich als wesentlich günstiger, die positiv traumatotaktische Kernverlagerung als Kriterium zu benutzen. Diese Reaktion trat viel regelmäßiger auf als die Neuinduktion von Teilungen. Und dabei zeigte sich immer wieder, daß die Traumatotaxis in den gewöhnlichen Rhizodermiszellen leichter eintrat und stärker war als in den Trichoblasten (Abb. 27). Die Hauptwanderwege der Wundhormone scheinen also dem Schema Abb. 28 zu entsprechen.

Obwohl diese Beobachtungen in manchen Punkten auch anders interpretiert werden könnten, durften sie doch wohl als ein Argument

zugunsten der Annahme angeführt werden, daß die Stoffwanderung von der äußeren Rinde zu den gewöhnlichen Rhizodermiszellen leichter ist als zu den Trichoblasten, die Trichoblasten also wirklich physiologisch isoliert stehen.

Selbstverständlich kann sich diese physiologische Isolierung nur auf die Zutrittsmöglichkeit von Substanzen beziehen, deren Wanderweg das Protoplasma und innerhalb der Zellwände die Plasmodesmen sind. Wir haben ja Grund genug zur Annahme, daß manche einfache Substanzen, namentlich wohl Wasser und einfache wasserlösliche Verbindungen, leichter innerhalb der Zellwände als von einem Protoplasten zum nächsten transportiert werden. Auch für die Trichoblasten ist ein solcher Stofftransport durch die Zellwände natürlich notwendig. Anders wäre ja ihre Ernährung im angenommenen Falle einer Isolierung ihrer Protoplasten von denen der Rinde gar nicht möglich. Man müßte also wohl annehmen, daß die Position der Trichoblasten auf den antiklinen Wänden der äußersten Rinde nicht nur den Sinn einer physiologischen Isolierung von benachbarten Protoplasten hat, sondern auch den Vorteil mit sich bringt, daß diese Trichoblasten die für ihre Weiterentwicklung notwendigen wasserlöslichen Nahrungsstoffe durch die Zellwände hindurch beziehen können. Und endlich ist die Position der Trichoblasten auf jenen antiklinen Wänden natürlich auch dann besonders vorteilhaft, wenn wirklich, wie jetzt wohl erwiesen ist, das von den Wurzelhaaren aus dem Boden aufgenommene Wasser in erster Linie durch die Zellwände der Rinde hindurch nach innen weitergeleitet wird.

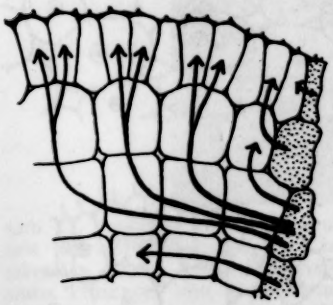


Abb. 28. Schematische Darstellung der Hauptwanderwege der Wundhormone in der Rinde und von dort zur Rhizodermis.

6. Diskussion der Ergebnisse.

Wenn wir aus den vorstehenden Untersuchungen einige allgemeine Schlußfolgerungen ableiten wollen, so müssen wir dabei in erster Linie die Rolle der wechselseitigen Hemmung von Orten lebhaften Plasmawachstums betonen. Diesem Prinzip kommt offenbar eine entscheidende Bedeutung bei der Determination pflanzlicher Gewebemuster zu.

Bei einer Beachtung älterer Erfahrungen werden wir finden, daß jenes Prinzip eigentlich schon lange bekannt ist. Wir können zunächst an einige normale Entwicklungsvorgänge erinnern.

Es ist ein charakteristischer Zug der pflanzlichen Gewebedifferenzierung, daß in einiger Entfernung von den Meristemen, namentlich von den Vegetationspunkten, wieder Einzelzellen oder Gruppen von Zellen

auftreten, die sich ähnlich wie die Meristeme durch lebhaftes embryonales Wachstum, also intensive Bildung von Protoplasma auszeichnen. Diese neuen Herde embryonalen Wachstums sind im mikroskopischen Bild leicht an ihrer starken Färbbarkeit, an den großen Zellkernen und anderen Eigentümlichkeiten erkennbar. Zum Teil werden diese Regionen sekundäre Meristeme, häufiger aber leiten sie nur bestimmte Differenzierungen ein und beenden dann wieder das Plasmawachstum. Da es sich aber allem Anschein nach in beiden Fällen um etwas ähnliches handelt, sollte man dann, wenn nicht sekundäre Meristeme entstehen, sondern nur Zellen mit zeitlich sehr begrenztem embryonalem Wachstum, wenigstens von „Meristemoiden" sprechen. Diese Bezeichnung erscheint durchaus berechtigt, wenn wir uns die Tätigkeit solcher Zellen näher ansehen.

Die Meristemoide können z. B. ein Blatt entstehen lassen: In einiger Entfernung vom Vegetationspunkt sehen wir plasmareiche Zellen, die sich lebhaft teilen und durch diese Teilung (bei Farnen und Blütenpflanzen außerdem durch die Induktion neuer Teilungen in der Nachbarschaft) die Blatthöcker entstehen lassen. Ein weiteres Beispiel solcher Meristemoide finden wir innerhalb der heranwachsenden Blattanlage selber in dem Entwicklungsabschnitt, in dem die embryonale Tätigkeit in den jungen Blättern allmählich erlischt: In der Epidermis bilden sich Spaltöffnungsinitialen, die sich ebenfalls durch lebhaftes Plasmawachstum, durch die neu erwachte Teilungsfähigkeit (allerdings nur zu einer weiteren Teilung führend) und oft auch durch Neuinduktion von Teilungen in der Nachbarschaft (Bildung von Nebenzellen) auszeichnen (Bünning und Sagromsky). Im *Sphagnum*-Blatt treten solche Meristemoide, die zudem noch sehr schön das Bild der zweischneidigen Scheitelzelle reproduzieren, auf, wenn die Blattscheitelzelle ihre Tätigkeit einstellt. Also auch hier wird die Reaktivierung der Zelle zu embryonaler Tätigkeit offenbar durch ein Meristem zunächst verhindert.

Daß sekundäre Meristeme oder Meristemoide erst in einiger Entfernung von den Meristemen oder bei deren Erlöschen auftreten, könnte man einfach durch die Notwendigkeit eines bestimmten Alters zu erklären versuchen, obwohl schwer verständlich ist, warum eine ältere Zelle leichter wieder embryonal werden soll als eine jüngere. Es läßt sich auch direkt zeigen, daß dieser Erklärungsversuch nicht den Tatsachen entspricht. Entfernt man bei einem Vegetationspunkt die Scheitelzellen, so können die Blattanlagen nunmehr bis zum Scheitel vorrücken (Wardlaw); offenbar ist also eine Hemmung fortgefallen. Das gleiche läßt sich für die Trichoblasten zeigen: Wenn die Teilungstätigkeit der Wurzelspitze aufhört, kann die Haarbildung bis zur äußersten Spitze vorrücken (vgl. die Angaben bei Troll).

So wie die Entstehung eines sekundären Meristems oder Meristemoids durch ein primäres Meristem in dessen unmittelbarer Nähe verhindert wird, verhindert auch ein sekundäres Meristem oder Meristemoid in seiner Nähe wieder die Entstehung einer weiteren derartigen Zellgruppe oder Zelle. Das wurde durch die Untersuchungen über die gegenseitige Hemmung von Spaltöffnungsanlagen (BÜNNING und SAGROMSKY) und die gegenseitige Hemmung von Blattanlagen (WARDLAW) gezeigt.

Es scheint also eine allgemeine Regel zu geben, nach der in der Nähe eines Orts embryonalen Wachstums nicht ein zweiter Ort dieses Charakters entstehen kann. Diese Regel ist uns eigentlich auch schon aus ganz anderen Tatsachen, nämlich den Regenerationsleistungen bekannt. Wir wissen, daß Zellen wieder zu embryonalem Wachstum übergehen, wenn wir ihren physiologischen Kontakt mit dem Meristem unterbrechen, einerlei, ob diese Unterbrechung durch Plasmolyse, durch Herausschneiden des zu isolierenden Gewebes oder durch Entfernung bzw. Inaktivierung (Eingipsen) des Meristems erzwungen ist.

Merkwürdigerweise ist, soweit ich sehe, nie versucht worden, jenes schon aus den Regenerationsleistungen zu erschließende Prinzip auf die Erklärung der normalen Entwicklung anzuwenden, obwohl es offensichtlich entscheidend wichtig ist für die Entstehung regelmäßiger Anordnungen im mikro- und makroskopischen Bereich.

Die vorstehende Untersuchung über die Differenzierung in der Wurzel soll also in erster Linie hierzu beitragen.

Einer kurzen Erörterung bedarf auch noch der Befund, daß eine Zelle, die der antiklinen Wand eines anschließenden Gewebes aufsitzt, physiologisch offenbar isoliert steht. Mindestens fallen bei ihr die Entwicklungshemmungen, von denen wir eben sprachen, leichter fort als bei anderen Zellen. Wir haben diese Art der Isolierung bei der Besprechung des Musters von Trichoblasten in der Rhizodermis ausführlicher dargelegt. Aber auch bei der Untersuchung der Phloemanordnung sind wir darauf gestoßen. Der Siebteil entsteht immer in dem Gebiet des Pleroms, das von den plasmareichen Orten der jungen Xylemstränge und der vor ihnen liegenden Perizykelzellen am weitesten entfernt ist. Die Ausgangszelle der Phloembildung liegt dabei, wie wir erwähnten, immer unter einer antiklinen Perizykelwand. Diese Position scheint somit auch hier eine solche physiologische Isolierung zu unterstützen.

Ergänzend sei hier noch auf einige ganz andere Fälle hingewiesen, bei denen auch einer solchen Zellwandposition eine ähnliche Rolle zuzufallen scheint. Zum Beispiel trifft das für die Tetrasporangienbildung von *Dictyota* zu. Die Tetrasporangien von *Dictyota* können wir auch als Meristemoide in dem definierten Sinne auffassen: Sie zeigen einen Neubeginn des embryonalen Wachstums, also starke Plasmabildung, und ein Wiederaufleben der Teilungsfähigkeit. Es ist daher bemerkens-

wert, daß sich hier ähnlich wie bei den Wurzelhaaren eine bevorzugte Bildung über antiklinen Wänden der darunterliegenden Zellschicht zeigt. Experimente konnten mit diesem Objekt nicht vorgenommen werden, aber es soll doch wenigstens diese Bevorzugung jener Lagen zahlenmäßig belegt werden. Nach Auszählungen, die hier Fräulein CHARLOTTE BREUNINGER vorgenommen hat, lagen von 450 Tetrasporangien 333 in der angegebenen Position und weitere 73 hatten fast diese Position, indem sie die antikline Wand wenigstens noch mit einer Kante berührten. Nur 44 Tetrasporangien lagen weiter entfernt.

Auch eine Beobachtung HUBERS paßt hierher: Im Transfusionsgewebe der Kiefernadel liegen parenchymatische und tracheidale Zellen in alternierenden Platten. Dabei sitzen die Parenchymzellen der Mitte, die Tracheidenplatten den Radialwänden der Endodermis auf. Auch hier könnte man daran denken, daß die Differenzierung durch eine physiologische Isolierung, und zwar bei den zu den Tracheiden werdenden Zellen möglich wird. Ich untersuchte hierzu Querschnitte aus ganz jungen Nadeln von *Pinus nigra* und fand, daß die Tracheidenbildung, wie zu erwarten, zunächst durch eine intensivere Färbbarkeit einzelner Zellen des jungen Transfusionsgewebes erkennbar wird. Es scheint also auch hier ein Fall der Neubelebung zytoplasmatischen Wachstums durch physiologische Isolierung vorzuliegen.

Sodann sei hier noch erinnert, daß bei einigen *Begonia*-Arten die Bildung von Spaltöffnungsgruppen dort möglich wird, wo die Epidermis durch einen großen Interzellularraum vom Mesophyll isoliert ist (BÜNNING und SAGROMSKY). Da die Bildung der Spaltöffnungsinitialen mit einem Wiederaufleben halbembryonaler Tätigkeit verbunden ist, wird an diesem Beispiel die Rolle der Isolierung für solches Wiederaufleben natürlich besonders deutlich.

Zusammenfassung.

Als Untersuchungsmaterial dienten die Wurzeln von *Lepidium sativum* und vor allem von *Sinapis alba*.

Die Umwandlung von Pleromzellen zu den beiden Gefäßstrahlen wird durch die Zellen der zentralen Pleromreihe schon in sehr geringer Entfernung von der Zentralzelle, d. h. in unmittelbarer Nähe der Wurzelinitialen determiniert. Die genannten Zellen der zentralen Pleromreihe zeigen eine radiale Polarität, die sich auch anatomisch in der elliptischen Form dieser Zellen im Wurzelquerschnitt äußert. Die beiden Xylemstränge werden in der Richtung des längeren Durchmessers dieser Ellipse angelegt. Die Determination von Pleromzellen zu Xylemelementen äußert sich zunächst in einem intensiveren Plasmawachstum dieser Zellen. Diese Induktion zur Intensivierung des Plasmawachstums erstreckt sich auch auf die vor dem Xylem liegenden Perizykelteile, und

von dort aus in tangentialer Richtung auf die benachbarten Perizykelzellen. Das Phloem entsteht an dem Punkt des Pleroms, der von diesen plasmareichen Orten der jungen Xylemstränge und der vor ihnen liegenden Perizykelzellen am weitesten entfernt liegt. Offenbar wird die Phloembildung, die selber durch intensives Plasmawachstum in einzelnen Pleromzellen eingeleitet wird, in der Nähe von Orten lebhaften Plasmawachstums unterdrückt. Die Entwicklung des Phloems beginnt damit, daß sich eine Pleromzelle unter einer antiklinen Wand des Perizykels durch eine perikline Wand inäqual teilt, wobei die äußere Zelle sehr bald ihren Plasmareichtum verliert, die innere Schwesterzelle aber ebenso wie die anderen nunmehr in der Nachbarschaft zur Phloembildung induzierten Zellen längere Zeit hindurch ein intensives Plasmawachstum zeigt.

Die genannten Wechselwirkungen zwischen dem Plasmawachstum im Plerom, im Xylem, Phloem und Perizykel lassen sich durch die Messung der Nukleolusgrößen zahlenmäßig erfassen, da das Nukleolusvolumen der Lebhaftigkeit der Zytoplasmabildung entspricht. Versuche über die Beeinflussung der Phloembildung durch das Anschneiden von Wurzeln bestätigen die genannten Schlußfolgerungen.

In der Rhizodermis entwickeln sich, wie schon CORMACK fand, nur die Zellen zu Trichoblasten, die einer antiklinen Wand der äußersten Rindenschicht aufsitzen. Hierfür ist offenbar die durch diese Position bedingte physiologische Isolierung ausschlaggebend. Die durch Intensivierung des Plasmawachstums (und entsprechend zunehmende Nukleolusgröße) gekennzeichnete Trichoblastenentwicklung läßt sich also einem Regenerationsvorgang gleichstellen, der ja auch durch solche Isolierung ermöglicht werden kann. Das heißt, es scheint auch hier wieder eine Hemmung durch Orte lebhaften Plasmawachstums vorzuliegen. Für diese Deutung spricht, daß sich alle Rhizodermiszellen zu Trichoblasten entwickeln können, wenn die Rhizodermis durch einen Schnitt vom plasmareichen Innengewebe der Wurzel getrennt wird. Versuche über die Wanderwege der Wundhormone in der Wurzel bestätigen, daß die Atrichoblasten einen besseren physiologischen Kontakt mit der Rinde haben als die Trichoblasten. Freilich dürfte das nur für kompliziertere Substanzen gelten, die durch die Plasmodesmen transportiert werden müssen. Einfache Nährstoffe können zweifellos gut unmittelbar durch die Zellwände geleitet werden und dadurch leicht zu den Trichoblasten gelangen.

Zum Schluß wird darauf hingewiesen, daß der wechselseitigen Hemmung von Orten lebhaften Plasmawachstums bei der pflanzlichen Gewebedifferenzierung offenbar eine sehr große Rolle zufällt.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danke ich für die finanzielle Unterstützung der Untersuchung, Fräulein RUTH KAUTT für die Hilfe bei der Anfertigung der Mikrotomschnitte und der Mikrophotographien, Fräulein ELSE SCHWILLE für die Anfertigung mehrerer Zeichnungen.

Literatur.

Bünning, E., u. H. Sagromsky: Z. Naturforschg **3** b, 203 (1948). — Caspersson, T. O.: Cell Growth and Cell Function. New York 1950. — Cormack, R. G. H.: Amer. J. Bot. **34**, 310 (1947). — Bot. Rev. **15**, 583 (1949). — Esau, K.: Hilgardia **15**, 299 (1943). — Guttenberg, H. v.: Der primäre Bau der Angiospermenwurzel. In Handbuch der Pflanzenanatomie, Abt. 2, Bd. 8, Teil 3. Berlin 1940. — Planta (Berl.) **35**, 360 (1947). — Huber, B.: Planta (Berl.) **35**, 331 (1947). — Jost, L.: Z. Bot. **25**, 481 (1932). — Sinnott, E. W., and R. Bloch: Amer. J. Bot. **28**, 225 (1941). — Thorell, B.: Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol. **12** (1947). — Troll, W.: Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. 1, Teil 3. Berlin 1941/42. — Wagner, N.: Planta (Berl.) **30**, 21 (1939). — Wardlaw, C. W.: Ann. of Bot. **14**, 435 (1950) und dort zit. Literatur.

Prof. Dr. Erwin Bünning, Botanisches Institut der Universität Tübingen.

Planta, Bd. 39, S. 154—170 (1951).

ÜBER DIE BLAUALGENSYMBIOSE VON GUNNERA.

Von

REINHOLD SCHAEDE.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Dezember 1950.)

Unter den Symbiosen von Blaualgen mit höheren Pflanzen, von den Moosen an gerechnet, nimmt die mit *Gunnera*-Arten eine besondere Stellung ein, weil allein hier die *Nostoc*-Fäden im Inneren der Wirtszellen leben. Diese Symbiose wurde von REINKE (1873) entdeckt und beschrieben, dann von MERKER (1889) neben morphologischen Untersuchungen kurz behandelt und durch MIEHE (1924) gründlich bearbeitet. Ihm gelang der Nachweis, daß die von REINKE und MERKER beschriebenen schleimerzeugenden Organe, die durch ihre Interzellulargänge dem *Nostoc* das Einwandern ermöglichen, dicht unterhalb des Vegetationskegels entstehende Wurzelanlagen sind, deren apikale Gewebeschichten zerfallen und die darauf jene ganz neue Tätigkeit ausüben (MIEHE, S. 4f.).

Trotz der eingehenden Untersuchungen blieben einige Punkte ungeklärt, vor allem die Frage, wie die Algen in die Zellen eindringen, nachdem sie in die Interzellularen im basalen Teil der sezernierenden Wurzelanlagen gelangt sind. REINKE (S. 94) meinte, Tüpfel seien „der einzig mögliche Weg"; MERKER (S. 228) spricht von Verschleimen oder Auflösung der Membranen; nach MIEHE (S. 7) verquellen diese, und es erfolgt nachher eine Wiederverfestigung. Das ist nicht recht wahrscheinlich, zumal alle anderen intrazellularen Symbionten in der Weise eindringen, daß sie die Zellwände an eng umschriebenen Stellen vermittels Lösung durchbohren.

REINKE und MERKER verwendeten Rasiermesserschnitte, mit denen sich keine Klarheit gewinnen läßt, wo es sich um das Erkennen sehr kleiner und zarter Dinge handelt. MIEHE sagt über seine Technik nichts. Aus der Einleitung zu seiner Arbeit geht hervor, daß er konserviertes Material benützt hat, also keines, das nach zytologisch einwandfreier Methode fixiert worden ist. Es zeigte sich aber bei meinen Untersuchungen, daß *Gunnera* in dieser Hinsicht wie in der ganzen Mikrotomtechnik ein sehr schwieriges Objekt ist. Wenn man nun die Fig. 6 in MIEHEs Arbeit betrachtet, die das Durchdringen von *Nostoc* durch die gequollenen Membranen darstellen soll, so fällt sofort die sehr starke Schrumpfung des ganzen Zellinhaltes auf. Derartige Erscheinungen sind jedoch äußerst ungünstig für die Beurteilung der natürlichen Verhältnisse. Ferner sind die Membranen reichlich dick wiedergegeben, denn ihr Querschnitt kommt dem Durchmesser der Algen nahe, der

3—4 μ beträgt, und das ist nicht recht vereinbar mit MIEHEs eigener Angabe, daß die Wände der algenführenden Zellen viel dünner sind als die des übrigen Gewebes; Membranen von der angegebenen Dicke können schwerlich noch als dünn bezeichnet werden.

Da nun im Botanischen Garten in Hamburg *Gunnera manicata* LINDEN sehr reichlich vorhanden und in gutem Zustande war, bot sich Gelegenheit zu einer neuen Untersuchung, um hauptsächlich das Eindringen von *Nostoc* in die Wirtszellen festzustellen und ferner zu ermitteln, ob die Algenfäden im Zellsaft liegen oder vom Zytoplasma umschlossen werden, worüber noch nichts Sicheres bekannt ist. Außerdem wurden noch einige andere Beobachtungen gemacht, die zu besserer Einsicht in die vorliegende Symbiose führen.

Die ersten Versuche der Fixierung im Juni 1949 mit den Mitteln nach JUEL und KAISER schlugen gänzlich fehl, da so starke Schrumpfung des Inhaltes der algenbergenden Zellen eingetreten war, daß sich von dem natürlichen Zustand kein brauchbares Bild gewinnen ließ. Im September 1949 wurde mit dem schwachen Gemisch nach FLEMMING und mit dem nach BENDA fixiert. Das erstere versagte aus dem genannten Grunde gleichfalls, und allein das letztere brachte ein befriedigendes Ergebnis, doch waren auch hier manche *Nostoc*-Zellen geschrumpft. Schuld an dem Versagen der Fixierungsmittel ist offenbar der außerordentlich hohe Gehalt des Materiales an Gerbstoff, der bereits REINKE aufgefallen ist. Er bewirkt außerdem, daß die Membranen sehr hart und brüchig werden, so daß dünnere Schnitte als 10 μ von den in Paraffin überführten Gewebestücken nicht für die Untersuchung taugen, weil die Zellwände zerbrechen. Dazu noch sind die zahlreichen Drusen von Calciumoxalat hinderlich. Doch auch das Benda-Material vom Herbst brachte die Lösung der erwähnten Fragen nicht, das gelang erst mit Gewebestücken, die Anfang Juni 1950 in gleicher Weise fixiert wurden. Daraus ergibt sich, daß es für die Bearbeitung der Symbiosen sehr bedeutungsvoll sein kann, zu welcher Zeit das Material entnommen wird. *Für Gunnera entscheidet der Beginn der Vegetationsperiode, denn in diesem spielen sich die Vorgänge ab, die das Einwandern der Algen in die Zellen ermöglichen.*

Die Färbung der Schnitte mit Anilinwasser-Safranin (0,1 g Safranin gelöst in 10 cm^3 Alkohol 95%, dazu 90 cm^3 Anilinwasser) ergab sehr klare Bilder. Zur Beobachtung diente ein Objektiv 1/12 Fl, n. A. 1,30 von Zeiß in Verbindung mit Kompensationsokularen. Für die Abbildungen wurde zur Wiedergabe der richtigen Größenverhältnisse der ABBEsche Zeichenapparat benützt.

Zunächst einige allgemeine Bemerkungen über *Gunnera manicata*. Der fast kriechende Stamm ist kurz und dick, die Blattbasen stehen daher dicht übereinander. Zwischen ihnen sitzen in großer Zahl schuppige rötliche Nebenblätter, die die Pflanze mit einem dicken Mantel umgeben. Ein Stamm von rund 5 cm Durchmesser und ungefähr 15 cm

Länge war etwa 4 Jahre alt. Unterhalb der Blattbasen und zwischen ihnen befinden sich die schleimabscheidenden Wurzelanlagen in reichlicher Zahl. Etwa 2 cm vom Sproßscheitel entfernt haben sie schon einen Durchmesser von 4—5 mm. Schleim von teils schmieriger, teils gallertartiger Beschaffenheit überzieht den oberen Teil des Stammes, besonders die Umgebung des Vegetationskegels; er wird zwischen den Nebenblättern festgehalten, und auf den älteren jener Schleimorgane sitzen mitunter gallertige Pfröpfe, die man mit der Pinzette abheben kann. Im Schleim halten sich allerlei Mikroorganismen pflanzlicher und tierischer Natur auf, wie MIEHE (S. 3f.) schon gefunden hat, auch Pilzmyzelien und Bakterien fehlen nicht.

Während sich nun bei *Gunnera macrophylla*, MIEHEs Untersuchungsobjekt, mit ihrem mehr gestreckten Stamm die Algennester in den Basen der Blätter unter drei Schwielen befinden, liegen sie bei *G. manicata* im Stammgewebe und nur gelegentlich auch in den untersten Teilen der Blattbasen, immer dort, wo sich die Schleimorgane entwickelt haben, die ja den *Nostoc*-Fäden Gelegenheit zum Einschlüpfen bieten. Die Nester reichen bis zu einem Zentimeter und mehr mit bäumchenartigen Verzweigungen in das Stammparenchym hinein. *G. manicata* hat große Ähnlichkeit mit *G. chinensis*, die REINKE vorgelegen hat.

Bei *G. manicata* treten auch die eigenartigen Organe auf, die REINKE (S. 65) als „faltige chlorophyllhaltige Excrescenzen" bezeichnet hat. Es sind bei unserer Pflanze rundliche bis längliche Gruben, bis 4 mm weit und ebenso tief, begrenzt von einem schmalen, ein wenig über die Umgebung erhobenen Wall. In der Jugend sind sie grünlich, im Alter weißlich. In der Nähe des Kegels enthalten sie Schleim, weiter abwärts sind sie mit Detritus und Erde gefüllt. Während ihre Umgebung schon zeitig nach Verlust der Epidermis mit metakutinisiertem Gewebe überzogen ist, weisen die Gruben eine zart kutinisierte Epidermis auf. Darin befinden sich Spaltöffnungen von verschiedener Größe, die fast alle offen stehen. Für den Gasaustausch sind sie nach Maßgabe der Verhältnisse ungeeignet, sie werden Wasserspalten sein, vielleicht sich an der Sekretion der großen Schleimmengen beteiligen.

Eigenartig verhält es sich mit dem Vorkommen des Gerbstoffes. Die nach BENDA fixierten Gewebestücke zeigen in den Safträumen der Zellen Bläschen von verschiedener Größe und Zahl, die infolge der Einwirkung von Chrom-Osmiumsäure je nach ihrem Gehalt an Gerbstoff gelbe, grüne bis schwarzgrüne Farbe haben. Es gibt in manchen Zellen auch Bläschen, die vom Safranin rosa gefärbt sind. In anderen Zellen wiederum erscheint der ganze Saftraum als schwarzgrüne Masse. Bei näherer Untersuchung ergibt sich aber, daß diese aus einer Unzahl sehr kleiner Bläschen besteht. Andererseits finden sich auch einzelne Zellen, deren Saftraum gleichmäßig grün ist, wie es auch manche mit rosa

gefärbtem gibt. Die letzteren liegen vornehmlich in der Nähe der Interzellulargänge, die in die basalen Teile der Schleimorgane führen. Solche Zellen enthalten im Saftraum offenbar Schleim, der auch mit Gerbstoff durchtränkt sein kann und dann unter Einwirkung des Fixierungsmittels entsprechende Färbung annimmt. Diese Zellen und mit Bläschen gefüllte können unmittelbar nebeneinander liegen. Es besteht die Möglichkeit, daß die Bläschen durch das Fixierungsmittel hervorgerufene Ausfällungen aus dem Zellsaft sind. Die Entscheidung liegt nicht im Rahmen der vorliegenden Arbeit und hat für die Symbiose keine Bedeutung. Der Schleim auf der Oberfläche des Stammes enthält ebenfalls Gerbstoff, wie MERKER (S. 227) festgestellt hat. Schleimklümpchen in schwache Eisenchloridlösung getaucht geben sofort die Reaktion. Bringt man einige Tropfen der Lösung zwischen die Nebenblätter in der Nähe des Vegetationskegels oder auf die Mündung eines Schleimorganes, so erhält man alsbald Schwärzung. Mit dem Universal-Indikatorpapier „Merk" wurde für den Schleim p_H 5 annähernd gefunden. Wenn nun in dem Schleim, wie gesagt, Mikroorganismen leben, so müssen für sie der *Gunnera*-Gerbstoff sowie der Säuregrad erträglich sein. Von den Bakterien, die ja mit wenigen Ausnahmen neutrale Medien bevorzugen, kommen nur Spezialisten in Betracht. *Azotobacter* und *Bacterium radicicola* scheiden auf jeden Fall aus, weil sie keine saure Reaktion vertragen. Von dem *Nostoc* wird später noch zu berichten sein (S. 163).

Die Schnitte durch junge Algennester des Materiales vom Frühjahr zeigten das folgende: Im Stammparenchym, das aus großen rundlichen Zellen mit recht dicken Membranen besteht, befinden sich Gruppen von kleinen Zellen mit außerordentlich dünnen Wänden. Sie schließen an algenführendes Gewebe an und sind durch wiederholte Teilungen entstanden, die festgestellt wurden. Die einzelnen Zellen haben ganz unregelmäßige Gestalt, wie wenn eine große Zelle durch beliebig gerichtete Wände in mehrere kleine Stücke zerlegt wird, und so ist es auch im Grunde genommen. Diese Zellen wachsen zunächst nur wenig, üben aber dabei deutlich einen Druck auf ihre Umgebung aus, denn die benachbarten Parenchymzellen sind schmal im Gegensatz zu der allgemein rundlichen Form. Interzellularen, die im Parenchym mit großer Regelmäßigkeit vorhanden sind, fehlen in dem kleinzelligen Gewebe ganz.

Das Zytoplasma dieser kleinen Zellen bildet einen sehr dünnen Wandbelag, der deutlich nur zu erkennen ist, wenn er sich infolge von Schrumpfung beim Fixieren von der Membran abgehoben hat. An solchen Stellen wird deren sehr geringe Dicke erst recht anschaulich, sie erscheint im Präparat sogar dünner als die Kernmembran. Im Stammparenchym ist das Zytoplasma ein so zarter Saum, daß es nur mit großer Mühe an feinem Gerinnsel wahrzunehmen ist. Die Kerne sind

hier wandständig und daher linsenförmig, sie besitzen neben dem gerinnselig fixierten Karyotin Chromozentren und einen recht kleinen Nukleolus. Die gleiche Struktur ist den Kernen des kleinzelligen Gewebes eigen, doch sind sie größer, im Verhältnis zu den Zellen sogar sehr groß, kugelig und liegen ungefähr in der Mitte der Zellen.

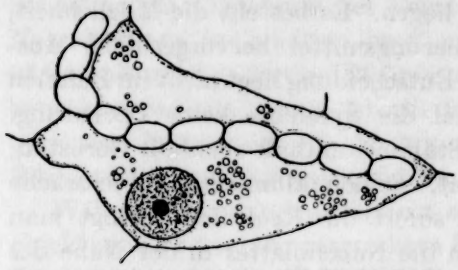


Abb. 1. *Gunnera manicata.* Ein *Nostoc*-Faden hat die Zellwand durchbohrt. Die kleinen Kreise bedeuten Gerbstoffbläschen. Vergr. 1060.

Diese Gewebegruppen heben sich durch die geschilderten Eigenschaften auffallend von dem übrigen Parenchym ab und verhalten sich darin fremdartig, wie eine Geschwulst auf eigene Faust wachsend. Es muß aber betont werden, daß eine Polyploidie nicht besteht, wie das für andere Fälle angegeben worden ist. *Gunnera* besitzt diploid 24 Chromosomen, und mehr wurden in Teilungsfiguren nicht gefunden.

Die in Rede stehenden Gewebeteile bieten den *Nostoc*-Fäden Gelegenheit zur intrazellularen Verbreitung. In vielen Fällen war mit absoluter Sicherheit festzustellen, daß *die Fäden die dünnen Membranen durchdringen, indem diese an der Berührungsstelle mit einer Nostoc-Zelle aufgelöst werden.* Oft steckte eine Zelle in der Öffnung der Membran, mitunter lag an der Durchtrittsstelle der Raum zwischen zwei Zellen (Abb. 1 und 2). Die Membran verschleimt oder verquillt also nicht, wie MERKER (S. 228) und MIEHE (S. 7) angegeben haben, sondern es verhält sich genau wie bei dem Durchdringen von Pilzhyphen, von *Bacterium radicicola* und den Aktinomyzeten. Mit den beiden letzten Fällen besteht auch darin Übereinstimmung, daß die Symbionten nur die Wände junger Zellen zu durchbohren vermögen. Ein Unterschied liegt hinsichtlich des Wirtsgewebes insofern vor, als sich in den Knöllchen der Leguminosen und den von Aktinomyzeten verursachten ein besonderes Meristem bildet, im Gewebe der *Gunnera* dagegen die dünnwandigen kleinzelligen Gruppen. Aus den Bildern ergab sich ferner klar, daß erst diese Zellen entstehen und dann die Besiedelung erfolgt und daß nicht die Zellteilungen nach dem Eindringen der Algen vorgenommen werden, was ja möglich gewesen wäre.

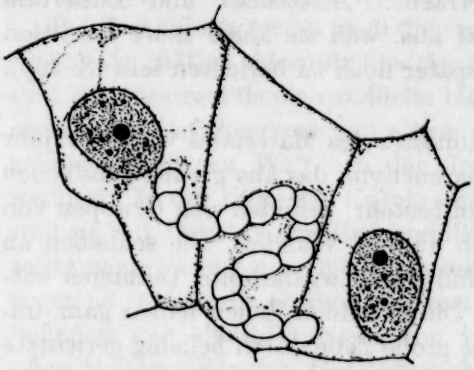


Abb. 2. *Gunnera manicata.* Ein *Nostoc*-Faden durchläuft drei Zellen. Die Gerbstoffbläschen im Zellsaft sind fortgelassen. Vergr. 1060.

Auf eine Reizwirkung der Symbionten gehen die Zellteilungen freilich sicher zurück, ebenso wie die Bildung der Meristeme in den eben erwähnten Fällen.

Einen Algenfaden kann man mitunter durch zwei, ja drei Zellen hindurch verfolgen (Abb. 2). Es erhebt sich die Frage, ob ein Faden durch das gebohrte Loch weiterkriecht oder ob eine Zelle in der Öffnung stecken bleibt und nun durch Teilungen eine Verlängerung der *Nostoc*-Kette eintritt. Mir scheint das letztere gegeben, und zwar aus folgendem Grunde: Die Fäden sind ja in freier Natur gerade oder verlaufen in weiten Bögen. Einigermaßen gerade kurze Fäden lassen sich hier und da in den Wirtszellen finden (Abb. 1), aber sehr oft sind sie stark gekrümmt und das besonders dann, wenn sie mehrere Zellen durchlaufen, ein deutliches Zeichen für Stauchung (Abb. 2), die in den engen Wirtszellen durch Längerwerden der Fäden infolge von Teilungen ihrer einzelnen Zellen zustande kommt. Veränderungen an den Wirtszellen sind nach der Besiedelung zunächst nicht bemerkbar.

Die vorliegende Blaualge ist als *Nostoc punctiforme* (Kütz.) Hariot bestimmt worden. Ihre einzelnen Zellen haben im Beginn des intrazellularen Lebens nicht ganz gleichmäßige Form, sind jedoch stets ellipsoidisch oder rundlich und etwa 3—3,8 μ dick. Auf die Bedeutung dieser Eigenschaften wird später eingegangen (S. 163f.). Die Fäden weisen hin und wieder größere Zellen auf, die offenbar Heterozysten sind. Manchmal liegt eine solche gerade in der Durchtrittsstelle durch die Wand einer Wirtszelle. Es muß hervorgehoben werden, daß *Nostoc* innerhalb der Zellen immer die Gestalt von Fäden besitzt. Miehe (S. 7f.) gibt nämlich an, es komme nie Hormogonienform vor und selten kettenartige Anordnung, indessen wird bald zu sagen sein, wie sich diese Aussage erklärt.

Ferner schreibt Miehe (S. 7), daß die Algen in den Zellen stärkere Gallerthüllen zu haben scheinen, und es ist ihm nicht gelungen festzustellen, ob sie im Zellsaft liegen oder vom Zytoplasma umschlossen werden, er hält jedoch das letztere für möglich (S. 8). In späteren Zuständen der Symbiose ist es in der Tat schwierig, hiervon klare Einsicht zu gewinnen. In den jungen Wirtszellen, die kurz nach der Besiedelung noch wenige Algenfäden enthalten, sieht man diese manchmal in sehr engem Abstande begleitet von einem außerordentlich dünnen Saum. Was dieser zu bedeuten hat, erkennt man klar in Zellen, deren feiner Zytoplasmabelag sich von der Wand infolge von Schrumpfung abgelöst hat. Die Plasmaschicht setzt sich in jenen Saum unmittelbar fort, *die Algenfäden sind also vom Zytoplasma umgeben* und liegen nicht unmittelbar im Zellsaft, haben auch keine Gallerthülle (Abb. 3). Daß sich das Plasma leichter und darum häufiger von den Algenfäden ablöst als von der eigenen Zellmembran, ist sehr leicht verständlich. Es verhält

sich nach alledem ebenso wie mit den endophytischen Aktinomyzeten sowie Pilzen und besonders *Bacterium radicicola*, das keinen Schleim mehr erzeugt, sobald es aus der fädigen Zooglöa in das Zytoplasma der Wirtspflanze gelangt ist.

In späterem Zustand waren die Wirtszellen, die an Größe nur wenig zugenommen hatten, dicht gefüllt mit stark gewundenen *Nostoc*-Fäden. Daß die Zellkerne in dem beengten Raume Formveränderungen erfahren, wie MIEHE (S. 48) ebenfalls beobachtet hat, ist unter derartigen Bedingungen etwas ganz gewöhnliches. Bei schwachen Vergrößerungen scheint *Nostoc* jetzt nur unregelmäßige Klumpen zu bilden, mit der Ölimmersion sind indessen die Fäden ganz deutlich zu erkennen. Wenn MIEHE, wie erwähnt, Ketten nur selten beobachtet hat, ist das wohl auf zu dicke Schnitte und unzureichende Vergrößerung zurückzuführen. So sieht man auch in Rasiermesserschnitten von frischem und konserviertem Material, die nicht dünn genug hergestellt werden können, nur ungeordnete Klumpen. Das Messer reißt jedoch aus den Wirtszellen die Algen gelegentlich heraus, und diese zeigen die Fadengestalt; nebenbei bemerkt ein Zeichen dafür, daß die einzelnen *Nostoc*-Zellen einer Kette einigermaßen fest aneinander haften. Durchdringen von Fäden durch die Membranen war in diesem Stadium nicht mehr zu erkennen, dazu lag der Inhalt der Wirtszellen zu dicht gedrängt.

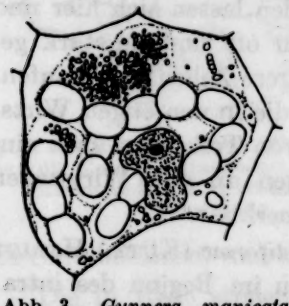


Abb. 3. *Gunnera manicata*. Das Zytoplasma umhüllt die Algenfäden, es hat sich von diesen und von der Zellwand an mehreren Stellen durch Schrumpfung abgelöst. In den Vakuolen Gerbstoffbläschen. Vergr. 1060.

Das Material vom September zeigte wieder ein anderes Bild. Die algenführenden Zellen waren bedeutend gewachsen, fast bis zur Größe der Parenchymzellen, und hatten dabei die ganz unregelmäßige Gestalt bewahrt. Ihre Wände waren dicker geworden, standen aber hinter dem Querschnitt der des Parenchyms deutlich zurück, was mit der Angabe von MIEHE (S. 8) übereinstimmt. Die *Nostoc*-Fäden lagen weniger dicht und waren darum als solche leicht festzustellen, ihre einzelnen Zellen hatten eine Breite von rund 5 μ erreicht. Die Kerne der Wirtszellen wiesen unregelmäßige Formen auf und waren gebläht, sichtlich verursacht durch Zunahme der Karyolymphe und damit verbundene Auflockerung der chromatischen Bestandteile. Vom Zytoplasma war nur noch ein äußerst feines Gerinnsel an den Zellwänden mit Mühe zu erkennen und ebenso gelegentlich an den *Nostoc*-Fäden. Die Zellkerne schienen darum ebenso wie diese frei im Saftraume zu liegen, was ja doch unmöglich ist. Es gibt eben hier wie in dem ausgewachsenen Stammparenchym außerordentlich wenig Zytoplasma.

Durchtrittsstellen von Algenfäden durch die Membranen ließen sich nur in ganz vereinzelten Fällen und nicht einmal mit Sicherheit feststellen. Es könnte sich um zufällig in der Wand steckengebliebene Fäden handeln, denn offenbar vermag *Nostoc* nur ganz junge Membranen zu durchbohren, und sobald die Wirtszellen ihre sekundären Wandschichten angelegt haben, ist das nicht mehr möglich.

Wenn nun in den jungen Zellen reichlich Durchtrittsstellen gefunden werden, in den ausgewachsenen dagegen so gut wie keine, ergibt sich daraus, daß die Algenfäden an diesen Stellen zerbrechen und daß die Löcher in den Zellwänden geschlossen werden. Es läßt sich kein triftiger Grund anführen, warum das nicht möglich sein sollte, da ja das Zytoplasma die Fähigkeit zur Abscheidung von Wandsubstanzen behält. Es sei nur an die „Buchsen" erinnert, jene zylindrischen Auflagerungen von Zellulose auf die Hyphen symbiontischer und parasitischer Pilze gerade an den Durchtrittstellen, an die Ummantelung der Infektionsfäden von *Bacterium radicicola*, an die Bildung von Kappen über die Haustorien der Pilze bei Flechtenalgen.

Über die Einschlüsse der Wirtszellen, Stärke und Gerbstoff, ist einiges zu berichten, die in sehr reichlicher Menge im Stammparenchym vertreten sind, besonders im Material vom September, wogegen Stärke im Juni stark zurücktritt, was sich durch den Verbrauch zur Bildung der gewaltig großen Blätter leicht erklärt. Miehe (S. 8) sagt, daß diese Stoffe in algenführenden Zellen nicht vorkommen. Für die Stärke ist das zu bestätigen. Ihr Fehlen braucht nicht unbedingt auf die Sekretion lösender Enzyme durch die Algen zurückzugehen, wiewohl man hier anführen könnte, daß nach den eingehenden Untersuchungen von Harder (1917, S. 213 ff.) über die Ernährungsansprüche des aus *Gunnera* isolierten *Nostoc punctiforme* Stärke eine sehr gute Quelle für Kohlenhydrat ist, auch bei Dunkelkultur. Unterdrückung von Stärkeaufbau kann ihren Grund in einem besonderen Reizzustand der Wirtszellen haben, hervorgerufen durch die Besiedelung. Unterbleiben der Bildung und Verschwinden von Stärke ist häufig nach Befall durch Parasiten und Symbionten. Auf jeden Fall stehen bei *Gunnera* die zugeleiteten Monosaccharide nicht mehr den Wirtszellen allein zur Verfügung, sondern auch ihren Endophyten. Entsprechend wird es sich mit den anderen lebenswichtigen Stoffen verhalten, über die eine Kontrolle nur nicht so leicht möglich ist wie bei Stärke.

Der Einfluß der Algen auf die Wirtszellen zeigt sich auch in dem Vorkommen von Gerbstoff. Die kleinen dünnwandigen Zellen des Materials vom Juni enthielten teils geringe, teils beträchtliche Mengen von Gerbstoffbläschen. Auf die Besiedelung und die Vermehrung der Algen hatte das keinerlei Einfluß. Das ist leicht erklärlich, weil die *Nostoc*-Fäden, wie nachgewiesen worden ist (S. 159), vom Zytoplasma

umgeben sind und darum mit dem Gerbstoff nicht in unmittelbare Berührung kommen. Dagegen war in den alten algenführenden Zellen des Materials vom September höchstens eine größere Zahl winziger Gerbstoffbläschen zu sehen, meist fehlten sie ganz. Man kann hier nur die Tatsachen feststellen, denn über den Zusammenhang hinsichtlich des Stoffwechsels läßt sich schwerlich etwas aussagen.

Von dem Stammparenchym, das die von Algen besiedelten Zellgruppen umschließt, ist folgendes zu erwähnen: Wie schon angegeben worden ist (S. 157), weisen die Parenchymzellen rings um das kleinzellige dünnwandige Gewebe durch die flache Gestalt ein deutliches Zeichen von Druckwirkung auf. Das macht sich gleichfalls nach dem Auswachsen der algenbesetzten Zellen bemerkbar, wie es MIEHE in dem Übersichtsbild Fig. 8 dargestellt hat. Besonders hebt es sich hervor, wenn zwischen Gruppen algenführender Zellen wenige Reihen algenfreier eingezwängt liegen, die infolge des Druckes lang und schmal geworden sind. Es fällt auf, daß die Zellen in der Umgebung der Algennester oft besonders reich an Gerbstoff sind.

Das Wachsen der Algennester mit unregelmäßigen bäumchenartigen Ausläufern in das Innere des Stammparenchyms bis über 1 cm in die Tiefe und Breite kommt offenbar dadurch zustande, daß sich an bestimmten Stellen durch Teilungen immer wieder neue Gruppen von Zellen mit sehr dünnen Wänden bilden, die den Algen das Durchdringen ermöglichen. Das tritt im Beginn der Vegetationsperiode ein, denn ausschließlich dann wurde es gefunden, während später nur ein Wachstum der befallenen Zellen festzustellen war. Diese Vorgänge verlaufen freilich langsam, was sich daraus ergibt, daß ein etwa erbsengroßes Algennest ungefähr 3 Jahre alt war und eines im Gewebestück von der Basis eines etwa 20 Jahre alten Stammes den Durchmesser von rund 1 cm hatte.

So wären denn im wesentlichen die Verhältnisse geklärt, soweit es sich um die Ausbreitung der von dem *Nostoc* besiedelten Zellgruppen im Gewebe des Wirtes handelt. Wir müssen uns notwendig auch mit dem Vorgang der ersten Infektion befassen und die Möglichkeit dazu aufzufinden suchen, haben wir doch gesehen, daß die Algenfäden nur in Zellen mit jungen und sehr dünnen Membranen einzudringen vermögen. Die Frage ist, wo solche zu finden sind. Es ist unumgänglich, den ganzen Weg der Algen zu verfolgen und ihr Verhalten zu beobachten.

REINKE (S. 93) und MERKER (S. 227) hatten die *Nostoc*-Fäden in den Mündungen und im Inneren der Interzellulargänge gefunden, durch die der Schleim aus den erwähnten ihn absondernden Organen heraustritt, und MIEHE (S. 3) sah sie außerdem in dem Schleim auf dem Vegetationskegel sowie zwischen den Blattanlagen. Er schreibt über *Gunnera*

macrophylla, an diesen Stellen sei *Nostoc* „nur ganz selten perlschnurartig" gewesen, meistens habe es unregelmäßige Zellhaufen gebildet. Bei *G. manicata* wurden am frischen Material in dem Schleim auf dem Kegel *Nostoc*-Fäden gefunden, teils kurze, teils lange mit mehr als 50 Zellen. An ihnen fiel auf, daß sie blaß waren und die einzelnen Zellen deutlich dünner sowie kürzer als die der intrazellularen Fäden, dazu zylindrisch und eckig. Dagegen ist *Nostoc* im Inneren der Wirtszellen intensiv gefärbt, dicker mit ellipsoidischen bis rundlichen Zellen. Die gleichen Gegensätze beobachtete HARDER (1917, S. 159) bei schlechter bzw. guter Ernährung des aus *Gunnera* isolierten *Nostoc punctiforme*. Daraus ist für die Alge in dem Schleim auf ungünstige Bedingungen zu schließen, mögen sie nun in dem Mangel an notwendigen Nährstoffen, in dem Vorhandensein von Gerbstoff oder in dem Säuregrad ihren Grund haben (vgl. HARDER 1917, S. 214f.). Lichtwirkung kommt nicht in Betracht, weil die Algen überall völlig im Dunkeln sitzen. Assimilation von freiem Stickstoff kann den Verhältnissen nach mit einiger Sicherheit für ausgeschlossen gelten.

In den Mündungen der Schleimkanäle wiesen die *Nostoc*-Fäden die gleichen Anzeichen mangelhafter Ernährung auf. Ihr Aussehen betreffs Größe und Dicke der einzelnen Zellen änderte sich etwas zum Besseren, wenn sie in die Tiefe der Interzellulargänge gelangt waren und dort größere Räume mit Knäueln erfüllt hatten (vgl. MIEHE, S. 6), wobei man die einzelnen Fäden ganz dicht aneinander gepreßt in den Mikrotomschnitten leicht erkennen konnte. Die großen Räume sind sicherlich durch starke Vermehrung der Algenfäden entstanden, indem durch deren zunehmende Maße das Gewebe auseinander gedrängt wurde, worauf auch die äußerst enge Ballung der Fäden schließen läßt. Ob sie hier noch Gallerthüllen besitzen, läßt sich nicht entscheiden. Der Schleim, der in verschiedener Menge auftritt, stammt von der *Gunnera*; man kann ihn häufig in dicker Schicht zwischen dem Algenklumpen und dem umliegenden Gewebe sehen, wogegen sich zwischen den Ketten nur sehr wenig befindet und mitunter verschiedene Fäden einander unmittelbar berühren. Es gibt übrigens auch algenfreie Räume mit Schleim, aber diese haben nicht entfernt den Umfang der eben besprochenen.

Nach der Basis der Schleimorgane hin führen vereinzelt sehr enge Interzellularen, die ebenfalls Schleim enthalten. Diese mögen den Algen Gelegenheit zum Wandern in die Tiefe bieten, indessen findet man sie auch zwischen den Zellen eng eingezwängt ohne Schleim. MIEHE (S. 6) vermutete schon, daß die *Nostoc*-Fäden die Mittellamellen aufzuspalten vermögen, und hat damit das Richtige getroffen, denn sie können zweifellos jene lösen. Auch bei den Cycadeen gelangt *Nostoc* auf diese Weise in die Wurzeln, wie WATANABE (1924, S. 174)

nachgewiesen hat. Was die Verhältnisse bei *Gunnera* anbelangt, so bin ich davon überzeugt, daß es sich an diesen Stellen schwerlich um ein Einkriechen, vielmehr um ein Hineinwachsen handelt, indem die Mittellamellen vor den Spitzen der sich durch Zellteilungen verlängernden Fäden gelöst werden. Man sieht nämlich sehr deutlich, daß diese in den engen Interzellularen einer starken Stauchung unterliegen; denn nicht nur die Ketten sind deformiert, sondern auch die einzelnen Zellen, die nicht selten breiter als lang erscheinen. Gelegentlich wird offenbar eine Zelle aus dem Verbande heraus gedrängt, was zu einer scheinbaren Verzweigung führt. Wenn schon die Fäden vorgebildete Interzellularen benützen, dann müssen sie dennoch hier die Mittellamellen lösen, weil die Gänge viel enger sind als der Querschnitt der Algenzellen. Die krummen unregelmäßigen Wege, die *Nostoc* durch das Wirtsgewebe nimmt, geben an, daß es dort vorrückt, wo es den geringsten Widerstand findet.

Auf diese Weise wird die Basis der Schleimorgane erreicht, die verhältnismäßig tief im Stammparenchym liegt. Dort befinden sich Gruppen von kleinen dünnwandigen Zellen ganz nach der Art der früher besprochenen. In Fig. 3 und 4 hat MIEHE sie richtig angedeutet, nur sind ihre Membranen zu dick dargestellt; allerdings muß zugestanden werden, daß eine vollkommen naturgetreue Wiedergabe durch Zeichnung und Druck kaum möglich ist. Ob diese Zellgruppen ohne Anwesenheit der Algen in den Interzellularen vorkommen, kann ich nicht sagen, weil mir algenfreies Material nicht zur Verfügung stand. Kernteilungen wurden auch an diesen Stellen beobachtet. Sicher ist, daß derartige Zellen mit den dünnen Membranen den Algen die Möglichkeit zum Durchbohren und Eindringen in das Innere geben. Die Infektion der ersten Zelle habe ich zwar ebensowenig zu Gesicht bekommen wie MIEHE, und das würde nur durch einen sehr günstigen Zufall gelingen, aber ich habe in mehreren Fällen den Weg gut verfolgen können, den die Algenfäden gegangen waren bis zu kleinen Nestern besiedelter Zellen. In ihnen erreicht *Nostoc* erst seine volle Größe und Gestalt, die gegenüber den bisherigen Kümmerformen auf gute Ernährung schließen lassen. Von nun an läuft die Verbreitung im Wirt in der früher beschriebenen Weise weiter.

Von dem Verlauf der Symbiose ist noch zu erörtern, wie sie enden mag. Bei *Gunnera macrophylla* beobachtete MIEHE (S. 9) ein Absterben der Algenfäden im unteren Drittel des Stammes. Entsprechendes tritt bei *G. manicata* ein, doch ohne klare Beziehung zum Alter des Stammstückes. In manchen Wirtszellen, mitunter größeren Gruppen, waren die Fäden blaß, ihre einzelnen Zellen geschrumpft. Unmittelbar daneben befanden sich hingegen auch vollkommen gesunde Algen, und Zellen mit

gesunden und toten waren ebenfalls vertreten. Den Zellen mit abgestorbenen Algen war nichts Nachteiliges anzumerken, sie waren turgeszent und besaßen normale Kerne. In einem Stück aus der Basis eines Stammes, der wohl 20 Jahre alt war, fanden sich sehr viele Zellen mit Algen in tadellosem Zustande, was sich schon an der kräftigen grünen Farbe der Nester zu erkennen gab. *Nostoc* kann also durch Jahre in manchen Zellen gut leben. Da HARDER (1917, S. 230) in alten Kulturen Vorhandensein wachstumshemmender Stoffwechselprodukte feststellte, könnte man daran denken, daß solche dem *Nostoc* das Ende bereiten. Aber warum dann nicht einigermaßen gleichmäßig nach Erreichen eines bestimmten Alters? In dem erwähnten Stammstück befanden sich ferner Wirtszellen mit kugeligen dickwandigen, über 5 μ dicken Algenzellen in ganz verschiedener Zahl. Auch MIEHE (S. 9) hat sie beschrieben und mit Recht für Dauerorgane gehalten. Sie können ins Freie gelangen, wenn die alten Stammteile verfaulen, was zu beobachten ich jedoch nicht Gelegenheit gefunden habe. Ob die Dauerzellen keimfähig sind und zu selbständiger Lebensweise befähigtes *Nostoc* hervorgehen lassen, ist eine Frage für sich, die uns bald beschäftigen wird.

Mit einigen Sätzen sei auf die Wertung der Symbiose eingegangen. Alle Forscher, die sich mit *Gunnera* beschäftigt haben, sind sich darüber einig, daß ihre Blaualgen in völliger Dunkelheit leben im Schleim auf dem Vegetationskegel sowohl als im Gewebe. REINKE (S. 95f.) spricht von Parasitismus der Algen, HARDER (1917, S. 236) desgleichen, MIEHE (S. 12) drückt sich nicht deutlich darüber aus. Nachdem für *Nostoc* in Kultur die Fähigkeit zur Bindung von freiem Stickstoff nachgewiesen war, hielt WINTER (S. 331) das auch in der Symbiose für möglich. Es läßt sich aber dafür gegenwärtig weder ein Beweis noch ein Gegenbeweis erbringen. Nach meiner Ansicht sind die Algen harmlose Parasiten der *Gunnera* aus folgenden Gründen: *Nostoc* hat nach HARDER (1917, S. 179) einen sehr geringen Bedarf an Stickstoff und vermag anorganischen wie organischen zu benützen, woran in den Wirtszellen schwerlich Mangel für den Endophyten sein wird. Es ist nicht einzusehen, warum die Alge unter solchen Bedingungen den sicher komplizierteren Weg der Assimilation von freiem Stickstoff benützen sollte. Wenn sie diese Fähigkeit unter bestimmten Voraussetzungen in Kultur entwickeln kann, muß sie es doch nicht unbedingt in der Symbiose tun. Das Entgegengesetzte haben wir bei *Bacterium radicicola*, es bindet als Endophyt freien Stickstoff, dagegen ist das in Kulturen nicht mit Sicherheit nachweisbar.

Die Frage, ob bei der vorliegenden Symbiose Bakterien irgendwie beteiligt sind, muß erörtert werden, da sie bei den Isolationen des *Nostoc*

durch HARDER (1917) und WINTER (1935) aufgetreten sind. Im Schleim auf dem Vegetationskegel leben Bakterien, sie können wie die Algen in die Schleimgänge gelangen. Im Inneren der Wirtszellen habe ich keine Bakterien gefunden. Sie werden beim Eindringen der Algenfäden in die Zellen sicherlich abgestreift, falls das nicht schon in den engsten Interzellularen erfolgt ist, wie es ja auch beim Durchkriechen der Algenfäden durch Agar und längerem Kriechen auf diesem geschieht. Dem scheinen die Ergebnisse von HARDER (1917, S. 152f.) zu widersprechen, da von der großen Zahl der angesetzten Kulturen keine steril war und auf nur 4 die Algen anwuchsen, ebenso die von WINTER (1935, S. 297, 330), bei denen auf 8 Schalen Entwicklung des *Nostoc* einsetzte und 3 davon anscheinend bakterienfrei waren. Neue Isolationsversuche von WINTER in den Jahren 1938 und 1946 verliefen bei 250 ausgelegten Gewebestücken ohne jeden Erfolg für Algen wie Bakterien trotz günstigster Bedingungen[1]. Wie mag es sich erklären, daß in den einen Fällen die Algen so spärlich anwuchsen und die Bakterien so gut wie immer, in den anderen dagegen keines von beiden? Nachdem ich die Verhältnisse im Gewebe der *Gunnera* eingehend kennengelernt habe, halte ich das Folgende für sehr wahrscheinlich. *Nostoc* und Bakterien der Kulturen stammten nicht aus dem Inneren der Wirtszellen, sondern aus den Interzellularen. Diese reichen nämlich bis in die Basis der Schleimorgane hinein, und es kann bei Entnahme von Gewebeteilen aus jüngeren Stammstücken gut vorkommen, daß darin auch Interzellularen mit Algen und Bakterien vorhanden sind. Es ist ferner möglich, daß die Algen im Zellinneren nicht mehr zu selbständiger Lebensweise befähigt sind, woraus der seltene oder ausbleibende Erfolg der Isolation verständlich würde. Eine sichere Entscheidung ist nur möglich, wenn mit Hilfe des Mikromanipulators aus den innersten Teilen von Algennestern älterer Stammstücke intrazellulare *Nostoc*-Ketten entnommen werden, desgleichen Dauerzellen, um ihre Keimfähigkeit zu prüfen. Für die intrazellulare Symbiose haben die Bakterien keinesfalls eine Bedeutung. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang das Verhalten der Pilze. Im Schleim auf dem Sproßscheitel sind kleine Myzelien reichlich vorhanden, sie fehlen dagegen in den Schleimgängen und sind auch in den Isolationsversuchen nicht beobachtet worden. Die saure Reaktion des Schleimes würde doch gerade sie begünstigen. Demnach muß darin irgendein ihnen unzuträglicher Stoff vorliegen, wofür der Gerbstoff allein offenbar nicht gelten kann.

---

[1] Herrn Professor Dr. WINTER sage ich für die briefliche Mitteilung meinen besten Dank, auch dafür, daß er mir seine Erfahrungen für die Veröffentlichung zur Verfügung gestellt hat.

Einige allgemeine Bemerkungen über Blaualgen-Symbiosen mögen angeschlossen werden, wobei von den Flechten und den Endozyanosen abgesehen, *Geosiphon pyriforme* aber einbezogen wird. Überall handelt es sich um Nostocaceen, gerade sie müssen demnach zu symbiontischer Lebensweise neigen; Gründe dafür lassen sich zur Zeit nur vermuten. *Gunnera* beherbergt *Nostoc punctiforme*, über die Cycadeen gehen die Meinungen auseinander, teils wird ebenfalls dieses angegeben, teils *Anabaena Cycadeae*, teils Nostocaceen nichtspezifischer Art. In den Blatthöhlen der *Azolla*-Arten lebt *Anabaena Azollae*, mit einigen Lebermoosen unspezifisches *Nostoc*, in *Geosiphon* ein nicht näher bestimmtes, vielleicht *N. sphaericum*.

Bei allen diesen Pflanzen befinden sich die Algen im Schleim, der von den Wirten abgesondert wird, und da sie ihn geradezu aufsuchen, muß er positiv chemotaktisch auf sie wirken. Das haben schon Miehe (S. 6) und Harder (1917, S. 225f.) ausgesprochen. Da nun nach den Versuchen von Harder (S. 196f.) *Nostoc* eine ganze Reihe von Kohlenhydraten ausnützen kann, mag ihm der Schleim als Quelle für den Kohlenstoff dienen, unumgänglich bei den Cycadeen und bei *Gunnera*, weil infolge von Ausschluß des Lichtes im Wirtsgewebe Autotrophie unmöglich ist. Es fällt aber ein Unterschied hinsichtlich des Gedeihens der Algen auf; denn sie sind im Schleim in gutem Zustande, allein bei *Gunnera* nicht. Hier zeigen sie deutliche Merkmale ungünstiger Ernährungsbedingungen im Schleim auf dem Vegetationskegel sowie in den Mündungen der Schleimkanäle, besser sehen sie aus und reichlicher vermehren sie sich in tiefer gelegenen schleimhaltigen Interzellularräumen, gut entwickeln sich die Algenfäden aber erst im Inneren der Wirtszellen und erreichen hier die größte Dicke. Es ist schon gesagt worden, daß sich der Gerbstoffgehalt des Schleimes und der Säuregrad nachteilig auswirken werden (S. 163).

Daß die Nostocaceen zu kriechen befähigt sind, zum wenigsten ihre Hormogonien, ist eine bekannte Sache. Sie drehen sich dabei aber nicht um ihre Längsachse wie die Oscillatorien. Das Zustandekommen der Bewegung ist freilich nicht hinreichend geklärt. Harder (1918, S. 228) führte sie auf Schleimabsonderung zurück entsprechend den Oscillatorien, für die man das damals nachgewiesen zu haben meinte. Inzwischen hat jedoch Ullrich (1926, 1929) festgestellt, daß das Kriechen der Oscillatorien durch longitudinale Kontraktionswellen verursacht wird. Auf die Nostocaceen kann das nicht ohne weiteres übertragen werden, weil ihnen die Drehbewegung fehlt. Schleimabscheidung nach einer Seite hin könnte also im Spiele sein wie bei den Cosmarien und Closterien. Solange wir keine bessere Erklärung haben, müssen wir uns damit abfinden.

Mit Recht kann gefragt werden, wie es kommen mag, daß bei *Gunnera* die Algen in das Innere der Wirtszellen gelangen, während sie bei den Cycadeen, *Azolla* und den Lebermoosen auf Räume zwischen den Zellen beschränkt bleiben. Der Grund ist wohl in dem Zustand der Membranen zu finden, denn, wie wiederholt betont worden ist, vermag *Nostoc* nur die sehr dünnen Wände junger Zellen zu durchbohren, die sich kurz vorher geteilt haben. Mit solchen kommen die Algen allein bei *Gunnera* in unmittelbare Berührung, bei den übrigen Pflanzen dagegen nicht. So bleiben die Fäden bei den Cycadeen ein ganzes Stück hinter dem Vegetationskegel der Korallenwurzeln zurück, bis die schleimführenden Interzellularen sich als Wohnraum gebildet haben (vgl. SCHAEDE 1944). Hier wie bei *Azolla* und den Moosen haben diejenigen Zellen, die mit den Algen in Kontakt kommen, sekundäre Zelluloselamellen, zu deren Lösung *Nostoc* nicht befähigt ist.

Anders verhält es sich mit *Geosiphon*. Der Wirt ist hier ein Pilz (KNAPP 1933, S. 211) mit einer Membran aus Chitin (v. WETTSTEIN 1915, S. 149), die an der Berührungsstelle mit dem *Nostoc* gelöst wird, worauf austretendes Zytoplasma die Alge umfließt und eine neue Membran bildet (KNAPP, S. 214). Die Lösung dürfte nicht ausschließlich vom Pilz ausgehen. Es ist mir kein Fall bekannt, in dem ein Wesen mit Hülle aus Zellulose oder Chitin diese örtlich auflöst, um feste Körper als Nahrung in sich aufzunehmen. Diese Symbiose hat noch eine Eigentümlichkeit, insofern als *Nostoc* im Zellsaft leben soll (KNAPP, S. 210), wogegen die Fäden in den Zellen der *Gunnera* von Zytoplasma umgeben sind, wie nachgewiesen worden ist (S. 159). Trifft jene Angabe für *Geosiphon* zu, dann wäre es der einzige derartige Fall.

Wenn *Nostoc punctiforme* und *Bacterium radicicola* nur dünne junge Membranen durchbohren können, so hängt das nicht nur mit der geringen Dicke, sondern auch mit dem Feinbau der Zellwände zusammen. Die Aktinomyzeten wollen wir außer Betracht lassen, weil einige die Fähigkeit Zellulose zu lösen besitzen, was auch für die symbiontischen zutreffen könnte. Die genannte Alge und das Bakterium dagegen vermögen nachweislich Zellulose nicht zu lösen. Es erhebt sich darum die Frage, wie diese durch die primäre Zelluloselamelle, die junge Zellen neben der Mittellamelle besitzen, hindurchkommen. Wenn die Zellulosemicellen unmittelbare Verbindungen miteinander hätten, so würden sie ein Gitter bilden, das für die Mikroorganismen undurchdringlich wäre. Man könnte sich allenfalls vorstellen, daß *Bacterium radicicola* mit dem Querschnitt von etwa 0,4 μ die Maschen des Gitters auseinander dränge, obgleich auch das Schwierigkeiten macht. Für *Nostoc* mit dem Durchmesser von rund 3 μ geht das nicht an. Falls die Zellulosemicellen aber durch leicht lösliche Substanzen wie Pektine oder Hemizellulosen ver-

kittet sind, fallen alle Schwierigkeiten weg; denn ein derartiges Gitter setzt Alge und Bakterium, nachdem sie die Kittsubstanz gelöst haben, keinen Widerstand mehr entgegen. Sind die sekundären Zellulose-lamellen angelegt, deren Micellen unmittelbaren Zusammenhang haben, dann sind die Membranen in der Tat in den vorliegenden beiden Fällen undurchdringlich. Die eigenartigen Verhältnisse bei *Geosiphon* scheinen anzudeuten, daß *Nostoc* Chitin anzugreifen vermag.

Zusammenfassung.

Die Verbreitung der *Nostoc*-Fäden im Stammgewebe von *Gunnera manicata* geht auf folgende Weise vor sich: Im Beginn der Vegetationsperiode entstehen an der Peripherie der vorhandenen Algennester durch wiederholte Teilungen Gruppen von kleinen Zellen mit sehr dünnen Wänden. In diese dringt *Nostoc* ein, indem es die Membranen an den Berührungsstellen auflöst. Es vollzieht sich also der gleiche Vorgang wie bei *Bacterium radicicola*, den Aktinomyzeten und Pilzen.

Derartige Zellgruppen ermöglichen auch die erste Infektion, wenn die *Nostoc*-Fäden durch die Interzellulargänge der schleimabsondernden Wurzelanlagen in deren basale Teile gelangt sind. Ihr Weg und Verhalten wurden genau verfolgt.

Die Algenfäden im Inneren der Wirtszellen sind von einer sehr feinen Zytoplasmahülle umgeben. Hier entwickeln sie sich infolge günstiger Lebensbedingungen besser als in dem Schleim und vermehren sich reichlich. Die Wirtszellen wachsen zunächst wenig und werden dicht mit Algenfäden gefüllt. Bis zum Herbst erhalten die Zellen ungefähr gleiche Größe wie die algenfreien Zellen des Stammparenchyms. Die Algenfäden liegen nun nicht mehr dicht.

In manchen Zellen sterben die Algen schließlich ab, wofür ein Grund nicht zu ermitteln war, während in anderen Dauerzellen gebildet werden.

Bakterien sind an der Symbiose nicht beteiligt, es wurden keine im Inneren der algenführenden Zellen gefunden. Ihr Auftreten in Isolationsversuchen wird erklärt, ebenso das spärliche oder ausbleibende Anwachsen des *Nostoc* in den Kulturen. Das intrazellulare *Nostoc* ist wahrscheinlich zu selbständigem Leben nicht mehr fähig.

Es werden einige allgemeine Bemerkungen über Blaualgen-Symbiosen gemacht: die Bedeutung des Schleimes; das Kriechen der Fäden; *Gunnera* und *Geosiphon* allein mit intrazellularem *Nostoc*; Rückschlüsse auf den Feinbau der von *Nostoc* durchbohrten Membranen.

Literatur.

Harder, R.: Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Cyanophyceen, hauptsächlich dem endophytischen *Nostoc punctiforme*. Z. Bot. **9** (1917). — Über

die Bewegung der Nostocaceen. Z. Bot. **10** (1918). — Knapp, E.: Über *Geosiphon pyriforme* Fr. Wettst., eine intrazelluläre Pilz-Algensymbiose. Ber. dtsch. bot. Ges. **51** (1933). — Merker, P.: *Gunnera macrophylla* Bl. Flora (Marburg) **72** (1889). — Miehe, H.: Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen der Algensymbiose bei *Gunnera macrophylla* Bl. Flora (Jena), N. F. **17** (1924). — Reinke, J.: Morphologische Abhandlungen. Leipzig 1873. — Schaede, R.: Über die Korallenwurzeln der Cycadeen und ihre Symbiose. Planta (Berl.) **34** (1944). — Ullrich, H.: Über die Bewegung der Beggiatoaceen und Oscillatoriaceen. Planta (Berl.) **2** (1926). — Über die Bewegung der Beggiatoaceen und Oscillatoriaceen. II. Planta (Berl.) **9** (1929). — Watanabe, K.: Studien über die Koralloide von *Cycas revoluta*. Botanic. Mag. **38** (1924). — Wettstein, Fr. v.: *Geosiphon* Fr. Wettst., eine neue, interessante Siphonee. Österr. bot. Z. **65** (1915). — Winter, G.: Über die Assimilation des Luftstickstoffes durch endophytische Blaualgen. Beitr. Biol. Pflanz. **23** (1935).

Prof. R. Schaede, (24a) Wedel/Holstein, Beethovenstr. 7.

Planta, Bd. 39, S. 171—174 (1951).

Aus dem Botanischen Institut München-Nymphenburg und dem Institut für Elektromedizin und Elektronentechnik der Universität München.

DIE KUTIKULA DER HYDROPOTEN VON NYMPHAEA.

Von

FRITZ GESSNER und GERTRUD VOLZ

in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl.-Ing. FRITZ SCHLEICH.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Januar 1951.)

In der Epidermis zahlreicher Wasser- und Sumpfpflanzen finden sich eigenartige Zellgruppen, die sich sowohl anatomisch von dem umliegenden Gewebe deutlich abgrenzen als auch physiologisch durch ihre elektive Färbbarkeit mit basischen Farbstoffen eine Sonderstellung einnehmen. Zuerst von PERROT (1897 und 1899) entdeckt, 1915 von MAYR bei verschiedenen Wasserpflanzen genauer untersucht, fanden die Hydropoten in der Folgezeit mannigfache Deutung ihrer Funktion. Während MAYR die Auffassung vertrat, daß es sich hierbei um wasseraufnehmende Organe handele, wurde von RIEDE (1921), dem es gelang, auch in Submersen einen aufsteigenden Wasserstrom festzustellen, die Meinung vertreten, die Hydropoten seien Drüsen, in denen submers eine Wasserabscheidung erfolge. GICKLHORN (1927) betonte den anodischen Charakter dieser Zellen, der sich aus ihrem Verhalten gegenüber Farbstoffen ergibt, und GESSNER (1933) sah in den Hydropoten Orte bevorzugter Phosphat- und Nitrataufnahme, also jener Anionen, die — im Gegensatz zu anderen Ionen — im Wasser in der Regel nur in extrem geringen Mengen vorhanden sind.

So verschieden nun auch alle diese Deutungen sein mögen und so unklar uns auch heute noch die Funktion der Hydropoten ist, so besteht das Gemeinsame, das allen Auffassungen zugrunde liegt, doch darin, daß es sich um Stellen in der Epidermis handelt, in denen der Durchtritt von Wasser oder gelösten Stoffen besonders erleichtert ist. Hieraus ergibt sich die Frage, ob sich in der Hydropotenkutikula, die auch nach DRAWERT (1938) für Farbstoffe besonders leicht permeabel ist, Eigenschaften bzw. Strukturen finden lassen, die mit diesem erleichterten Durchtritt von Stoffen in Zusammenhang gebracht werden könnten.

Als Untersuchungsobjekt diente die unterseitige Kutikula der Blätter von *Nymphaea Marliacea*, einem Gartenbastard, der im Nymphaeabecken des Münchner Botanischen Gartens gezogen wird. Die Präparation der Kutikula bietet keinerlei Schwierigkeiten. Nach der Angabe von RUGE (1940) fertigt man mit dem Rasiermesser große Oberflächenschnitte an und legt diese in 50%-Chromsäure, durch welche alle Bestandteile mit Ausnahme der Kutikula aufgelöst werden. Schon nach etwa

30 min ist dieser Auflösungsprozeß beendet, und man kann die dünnen Kutikularhäute herausfischen, gründlich mit Wasser überspülen und für die Untersuchung herrichten.

Abb. 1 zeigt eine lichtmikroskopische Aufnahme der unterseitigen Kutikula, die in diesem Falle mit Sudan III angefärbt worden ist. Wir erkennen die kreisförmigen Umrisse der Hydropoten, die von GRÜSS (1927) näher untersucht und in etwas unglücklicher Weise als „Haustoren" bezeichnet worden sind. Es handelt sich hierbei um Gebilde, welche aus drei übereinanderstehenden Zellen aufgebaut sind. Gute Abbildungen hievon in der Aufsicht sowie im Querschnitt hat neuerdings VARDAR (1950) gegeben. Die unterste Zelle ist becherförmig in die Epidermis eingesenkt und trägt die beiden anderen Zellen, die zusammen eine bikonvexe Linse bilden. Die oberste Zelle ragt meist als flache Kuppel über die Epidermis empor, kann jedoch bei manchen Nymphaeaceen *(Nymphaea Lotus)* haarartig auswachsen.

Daß es sich bei diesen Gebilden um Hydropoten handelt, kann, wie auch DRAWERT betont, nicht zweifelhaft sein. Gegenüber Farbstoffen verhalten sie sich so wie die Hydropoten anderer Wasserpflanzen, und durch ein schönes Experiment konnte GRÜSS sogar den Nachweis erbringen, daß sie Orte bevorzugter Wasseraufnahme sind. Legt man nämlich ein *Nymphaea*-Blatt auf Wasser, in dem sich in feiner Verteilung chinesische Tusche befindet, so scheiden sich alsbald die Rußteilchen als dicker Belag an den Kopfzellen der Hydropoten ab und zeigen so an, daß hier ein ungewöhnlich starker Wassereinstrom erfolgt, aus dem das Kutikularsieb die festen Teilchen der Suspension herausgefiltert hat.

Sowohl GRÜSS als auch VARDAR sind allerdings der Meinung, daß die Oberfläche dieser Hydropotenzelle gar nicht kutinisiert sei. Schon das lichtmikroskopische Bild läßt jedoch erkennen, daß die Stellen, wo das gefärbte Häutchen zerrissen ist (Abb. 1 rechts oben) oder eine Hydropotenzelle samt Verdickungsring ausgefallen ist, heller sind als die Innenfläche der Ringe. Es muß also noch eine wenn auch geringe Kutinisierung vorhanden sein.

Glücklicherweise eignet sich nun die Kutikula der meisten Wasserpflanzen, die ja nach FREY-WYSSLING (1948) nur aus einem äußerst dünnen optisch isotropen Häutchen besteht, auch für die Untersuchung im Elektronenmikroskop. Werden Kutikularhäute anderer Pflanzen (z. B. von *Hedera*) in oben geschilderter Weise isoliert, so erscheinen sie wegen ihrer Dicke im Elektronenmikroskop vollständig schwarz, die Kutikula der Nymphaeaceen dagegen wird — zumal bei nicht allzu starken Vergrößerungen — noch recht gut durchleuchtet.

Stellt man nun auf die Kutikula der Hydropotenzelle ein, die ja durch den Verdickungsring stets deutlich abgegrenzt ist, so erkennt man mit Überraschung, daß hier die Kutikula — im Gegensatz zu jener

außerhalb der Hydropote — siebartig durchlöchert erscheint (Abb. 2). Vergrößert man diese hellen Stellen noch schärfer (Abb. 3), so glaubt

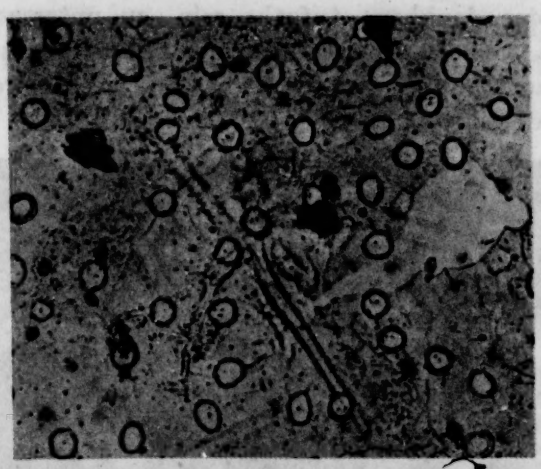


Abb. 1. Lichtmikroskopisches Bild der unterseitigen Kutikula von *Nymphaea*. Die Kreise (Durchmesser etwa 20 μ) sind die verdickten Ringwülste, welche die Hydropoten begrenzen.

man innerhalb der hellgrauen Felder Perforationen mit 0,05 μ Durchmesser zu sehen, doch selbst diese weißen Punkte sind — wie sich im Dunkelfeld erweist — noch nicht wirkliche Löcher in der Kutikula.

Abb. 2. Elektronenbild der Kutikula einer Hydropotenzelle. Nur innerhalb der Hydropote zeigt die Kutikula zahlreiche Verdünnungen. Vergr. 2800fach.

Die Bilder, welche uns einen Eindruck von der extrem starken, siebartigen Verdünnung der Kutikula innerhalb der Hydropote bieten, geben nun wohl ohne Zweifel auch die Erklärung für den erleichterten

Stoffdurchtritt in diesen Zellen, der sicher mit der Funktion der Hydropoten zusammenhängt.

Es wird eine dankbare Aufgabe sein, zu untersuchen, ob auch die Kutikula von Hydropoten anderer Wasserpflanzen sowie diejenige der Saugschuppen der Bromeliaceen im Elektronenmikroskop ähnliche Bilder ergeben.

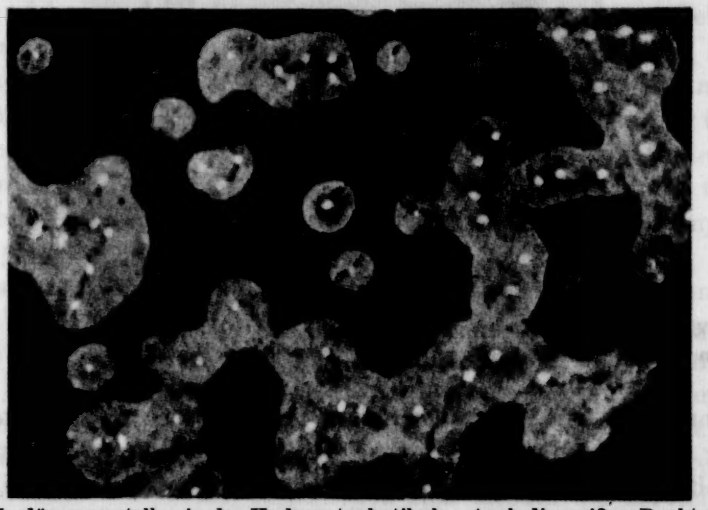


Abb. 3. Verdünnungsstellen in der Hydropotenkutikula. Auch die weißen Punkte inmitten der hellgrauen Felder sind — wie Dunkelfeldbeobachtungen zeigen — noch keine wirklichen Perforationen. Vergr. 13400fach.

Literatur.

Drawert, H.: Elektive Färbung der Hydropoten an fixierten Wasserpflanzen. Flora (Jena), N. F. **32**, 234 (1938). — Frey-Wyssling, A.: Submicroscopic Morphology of Protoplasm and its Derivatives. New York-Amsterdam-London-Brussels 1948. — Gessner, Fr.: Die Nährstoffaufnahme der Submersen. Ber. dtsch. bot. Ges. **51**, 216 (1933). — Gicklhorn, J.: Über die Entstehung und die Formen lokalisierter Manganspeicherung bei Wasserpflanzen. Protoplasma (Berl.) **1**, 372 (1927). — Grüss, J.: Die Haustoren der *Nymphaeaceen*. Ber. dtsch. bot. Ges. **45**, 459 (1927). — Mayr, Fr.: Hydropoten an Wasser- und Sumpfpflanzen. Beih. Bot. Cbl. **32**, 278 (1915). — Perrot, E.: Sur une particularité de structure de l'épiderme inférieure de la feuille chez certaines *Gentianées* aquatiques. J. de Bot. **11**, 1 (1897). — Anatomie comparée des *Gentianacées*. Ann. Sci. nat. Bot. sér. 7, **8**, 105 (1899). — Riede, W.: Untersuchungen an Wasserpflanzen. Flora (Jena) **114**, 1 (1921). — Ruge, U.: Kritische zell- und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an den Blattzähnen von *Helodea densa*. Flora (Jena), N. F. **34**, 311 (1940). — Vardar, Y.: Untersuchungen über die Wasserbewegungen in untergetauchten Pflanzen. Rev. Faculté Sci. Univ. Istanbul B **15**, 1 (1950).

Planta, Bd. 39, S. 175—244 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn.

ZUR KENNTNIS DES BEFRUCHTUNGSVORGANGES BEI IMPATIENS GLANDULIGERA LINDL.

CYTOLOGISCHE STUDIEN AM EMBRYOSACK DER BALSAMINEEN.

Von

KURT STEFFEN.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. November 1950.)

I. Einleitung.

Wer die Arbeiten über den Befruchtungsvorgang der Angiospermen kennt, und seien es nur die zusammenfassenden embryologischen Darstellungen der letzten Zeit (SCHÜRHOFF 1926, DAHLGREN 1927a, SCHNARF 1929, 1931, 1941a und b, MAHESHWARI 1937, 1948 und 1949*), wird wissen, daß zwar seit der Entdeckung der doppelten Befruchtung durch NAWASHIN und GUIGNARD eine Fülle von Arbeiten über dieses Thema erschienen ist, daß aber die meisten Arbeiten unvollständig sind und bei kritischer Betrachtung nicht befriedigen können (vgl. dazu auch SCHNARF 1941b, 175 und die Kritik von GERASSIMOVA 1933, 103). Deswegen erschien es wichtig diesen Gegenstand mit aller Sorgfalt noch einmal zu untersuchen und dabei zugleich eine Inventur und Kritik unserer Kenntnisse vorzunehmen.

Die meisten fehlerhaften Deutungen besonders in Arbeiten, die diesen Gegenstand nur beiläufig behandeln, sind auf eine Unkenntnis der cytologischen Verhältnisse vor der Befruchtung und die dadurch bedingte Verwechslung der Kernstrukturen mit Spermakernen zurückzuführen. Darum mußte zunächst die Cytologie des Embryosackes geklärt werden, wobei besonderer Wert auf die Nukleolarverhältnisse zu legen war, da die Nukleolenzahl häufig als Beweis für eine vollzogene Befruchtung herangezogen wird, so mit „Vorbehalt" bei DAHLGREN (1927, 183), SCHÜRHOFF (1931, 335), KÜSTER (1935, 211), SWAMY (1949, 22) und KAIENBURG (1950, 394), um nur einige Beispiele anzuführen. Nach diesem Gesichtspunkt ergab sich folgerichtig eine Vierteilung der Arbeit in:

1. Cytologie der Polkerne und ihres Verschmelzungskernes,
2. Cytologie des Eiapparates,
3. Weg des Pollenschlauches,
4. Befruchtung.

* *Anmerkung während der Korrektur:* P. MAHESHWARIS An Introduction to the Embryology of Angiosperms New York 1950, wurde mir erst jetzt (6. 3. 51) zugänglich.

Für das Studium des Befruchtungsvorganges schien der Chromozentrenkern der Balsamineen besonders geeignet. Ich hoffte an ihm die Reifungsprozesse der Sexualkerne genau studieren und vor allem die in neuerer Zeit wieder von WERCKMEISTER (1936), PAVULANS (1940) und SVESHNIKOVA (1941) aufgeworfene Frage nach der Nuklealität des weiblichen Sexualkernes klären zu können. Eine Frage, die wie TISCHLER (1943, 685) betont, „prinzipiell wichtig werden" kann (vgl. dazu auch MILOVIDOV 1949, 441).

Für meine Untersuchungen habe ich *Impatiens glanduligera* LINDLEY (= *I. glandulifera* ROYLE = *I. Roylei* WALPERS) gewählt, an deren Entwicklungsgeschichte ich bereits früher (STEFFEN 1944) gearbeitet habe. Zudem stand mir aus früheren Studien genügend Vergleichsmaterial anderer Balsamineen zur Verfügung.

Über den Befruchtungsvorgang bei den Balsamineen ist trotz der Angaben von DAHLGREN (1927, 190) und SCHNARF (1931, 146), wonach bei *Impatiens fulva* und *Sultani* doppelte Befruchtung beobachtet wurde, nichts Gesichertes bekannt.

Über *Impatiens Sultani* heißt es in OTTLEYS Zusammenfassung (1918, 311): "16. Two coiled sperm nuclei are often seen near the egg nucleus. 17. It seems very probable that triple fusion occurs", und bei LEBON (1929, 1169 zu fig. 1) findet sich nur folgende Bemerkung über den Pollenschlauch: "il a déjà émis un spermatozoïde". LEBONS Fig. 1 ist völlig unbrauchbar, und auch aus OTTLEYS Abbildungen, Tafel XV, Abb. 38 u. 39 und 44 u. 45 läßt sich wenig entnehmen. So fehlt z. B. der Umriß der Eizelle ganz. Die Unzulänglichkeit der Beobachtungen ist augenscheinlich auch OTTLEY bewußt gewesen, wie aus den vorsichtigen Angaben in der Zusammenfassung hervorgeht. Die Angaben CARROLLS (1919) über *Impatiens fulva* sind bereits von SCHÜRHOFF (1931) mit Recht kritisiert worden. Um so mehr wundert es mich, wie SCHÜRHOFF zu der Meinung kommt, daß die Befruchtung bei den Balsamineen bekannt sei und „keine Besonderheiten" zeige (1931, 346). In der zitierten Arbeit kritisiert SCHÜRHOFF, wie gesagt, die Arbeiten von RAITT (1916 über *Impatiens pallida*) und CARROLL (1919 über *Impatiens fulva*) und weist ihre Fehlerhaftigkeit nach. Zugleich beschreibt er selber einen Befruchtungszustand bei *Impatiens parviflora* (1931, 335), den man nach seiner eigenen Deutung folgerichtig als Dispermie bezeichnen muß. Zudem erschließt er aus einem Folgezustand rückläufig eine Dispermie (1931, 338). Es wäre also eher verständlich, wenn er nach diesen Befunden die Befruchtung als abnormal bezeichnet hätte.

Die anderen Arbeiten, die sich noch mit der Haploidgeneration der Balsamineen befassen [JÖNSSON 1879 über *Impatiens cristata (= scabrida)* und *Impatiens Balsamina (= Balsamina hortensis)*, LONGO 1907 und 1910 über *Impatiens Balsamina* und DAHLGREN 1927b, 1933 und 1934 über *Impatiens glanduligera*], bieten keinen Anhalt für die wahren Verhältnisse beim Befruchtungsvorgang.

Die Entstehung der männlichen Gameten ist in letzter Zeit häufig bei den Balsamineen untersucht worden, doch sind meist keine Endzustände abgebildet. Diese Arbeiten, die im wesentlichen die Kernteilung in den Pollenschläuchen zum Gegenstand haben, fallen für unsere Betrachtungen aus. In diesem Zusammenhange ist nur die Arbeit von WULFF (1934a) verwertbar, wo auch die einschlägige Literatur weitgehend zitiert ist.

Für die Deutung der Kernphasen, in denen sich Eiapparat und sekundärer Embryosackkern befinden, sind besonders die ersten Prophasestadien von Interesse, wie sie z.B. GRÉGOIRE (1931), Soeur DOUTRELIGNE (1933 und 1942), SMITH (1934)

und SCHAEDE (1935 und 1936) für *Impatiens Balsamina* und HEITZ für *Impatiens Mathildae, Holstii* und *Hydrocera trifoliata* (1929) und *Impatiens Sultani* (1933) beschrieben haben. Die übrige cytologische Literatur über *Impatiens* ist für diese Arbeit ohne größere Bedeutung.

Als Haploidzahl für *Impatiens glanduligera* wird in Übereinstimmung mit SMITH (1934) 9 festgestellt.

Mit der vorliegenden Arbeit soll zugleich eine Lücke in der Entwicklungsgeschichte von *Impatiens glanduligera* geschlossen werden. Embryosack- und Endospermentwicklung sind durch DAHLGRENs Untersuchungen (1934) bekannt (ich möchte an dieser Stelle besonders betonen, daß ich DAHLGRENs Angaben überprüft habe und sie vollauf bestätigen kann). Die von mir schon seit längerer Zeit bearbeitete Embryoentwicklung hoffe ich im Anschluß veröffentlichen zu können.

II. Eigene Untersuchungen.

A. Technik.

Das Material zu meinen Untersuchungen stammt aus dem Botanischen Garten der Universität Marburg. Die Fixierung der angeschnittenen Fruchtknoten erfolgte unter vermindertem Druck in dem Nawashin-Gemisch, das auch DAHLGREN (1934, Anm. zu S. 116) mit bestem Erfolg verwandt hat. Variation der Fixierungsdauer zwischen 12 und 22 Std war ohne Einfluß auf die Fixierungsgüte. Außerdem wurden Fixiergemische nach FLEMMING, JUEL und CARNOY allerdings mit geringerem Erfolg benutzt; Chondriosomenfixierung nach REGAUD. Einbettung in Paraffin vom Schmelzpunkt 52° auf die übliche Weise mit Xylol als Intermedium. Dem Paraffin wurden etwa 3% reines Wachs vom Schmelzpunkt 65—66° zur Erhöhung der Schneidbarkeit zugesetzt. Die Serienschnitte mit einem Mikrotom nach dem MINOTschen Prinzip waren 8—10 μ dick. Sie wurden mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt, das sich sämtlichen anderen angewandten Hämatoxylinfärbungen (Hämatoxylin nach HANSEN, DELAFIELD und Hämalaun nach P. MAYER) überlegen erwies. Gegengefärbt wurde mit Eosin. Die Färbung mit Gentianaviolett lieferte besonders beim Fadenapparat der Synergiden recht gute Ergebnisse.

Um die für die Färbung des Embryosackes bestens geeignete Nuklealreaktion auch als spezifischen Nachweis für Thymonukleinsäure verwenden zu können, wurden die beiden dafür notwendigen Voraussetzungen geschaffen:

1. Färbung unhydrolysierter Kontrollschnitte (MILOVIDOV 1949, 422, 436 und 449).

2. Variation der Hydrolysezeit bei Temperatur- und Säurekonstanz, um maximale Färbung zu erzielen (MILOVIDOV 1949, 424) und um der Gefahr der Abwanderung von Farbe zu begegnen (ELY und ROSS 1949).

Hierbei machte ich mir die Erfahrungen von BAUER (1932, 1933), SERRA (1943), STOWELL (1945), DI STEFANO (1948a und b), MILOVIDOV (besonders 1949) und LIMA-DE-FARIA (1950) zu nutze, deren Arbeiten zum Teil zugleich den Beweis der Spezifität der Reaktion erbringen.

Es wurde versucht alle bisher bekannten Fehlerquellen (MILOVIDOV 1936, 1940 und 1949) auszuschalten, wobei eigene Versuche über die Hemmwirkung von Gerbstoffen im Gegensatz zu MILOVIDOV keine wesentliche Abschwächung der Reaktion ergaben. Für die Reaktion wurde Material der vier verschiedenen Fixierungen verwandt, wobei sich das formolhaltige Nawashin-Gemisch als besonders geeignet

und für den Färbungsausfall ungefährlich erwies (vgl. dazu den von TISCHLER 1934, 68 zitierten Einwand Frl. v. BERGS gegen Formolgemische), eine Tatsache, die bereits von BAUER (1932) erkannt, neuerdings wieder von LESSLER (1948), LHOTKA und DAVENPORT (1949), MILOVIDOV (1949, 425) und LIMA-DE-FARIA (1950) bestätigt wird. DI STEFANO (1948b) hält Chromsäurefixierung bei quantitativen Studien für besonders geeignet.

Zur Ausschaltung der Plasmalreaktion wurden die Schnitte 24—48 Std mit 96% Alkohol behandelt.

Ein Teil der Präparate wurde zum Vergleich mit Fuchsin-Jodgrün (SCHNEIDER-ZIMMERMANN 1922, 121) gefärbt.

Für das Studium der Pollenschläuche wurden Lebenduntersuchungen, seit 1950 auch mit dem Phasenkontrast-Verfahren der Firma Winkel-Zeiss durchgeführt und auf Anregung der Prof. OEHLKERS und MARQUARDT, für die ich bestens danke, auch Kontrollfärbungen mit der K-E-Methode.

Um das Auflösungsvermögen der Optik für die rotviolette Feulgen-Färbung zu prüfen, wurden Kontrolluntersuchungen gefärbter Bakterien und kleinkerniger Pilze durchgeführt. Auf Grund dieser Untersuchungen bevorzugte ich ein 1/16 Fluoritsystem der Firma Leitz, n.A. 1,32. Die Zeichnungen wurden meist bei 1900facher Vergrößerung mit dem großen ABBEschen Zeichenapparat aufgenommen und später für die Reproduktion auf photographischem Wege verkleinert.

Sämtliche Messungen wurden mit Ölimmersion (1/12) und einem Okular 3 vorgenommen. Die Werte wurden auf einen Teilstrich genau, das sind 0,75 μ, abgelesen.

Die Arbeit entstand in den Jahren 1945—1947 und wurde von der Philosophischen Fakultät der Philipps-Universität Marburg als Habilitationsschrift angenommen; sie wurde in den Jahren 1949 und 1950 an Hand neuer Präparate überprüft und auf den neuesten Stand gebracht.

B. Ergebnisse.

1. Cytologie der Polkerne und ihres Verschmelzungskernes.

a) Die Samenanlage. Die Samenanlagen sind hängend, anatrop und apotrop und derart seitlich gedreht, daß die Mikropyle nicht mehr im Winkel zwischen Funiculus und Placenta liegt, sondern seitwärts schaut. Dadurch wird die Samenanlage asymmetrisch und „es unmöglich einen Medianschnitt gleichzeitig durch sämtliche Teile herbeizuführen" (DAHLGREN 1934, 107). Nur in den Fällen, wo diese Drehung unterblieben ist, wird man einen Medianschnitt führen können, der einen guten Überblick über den Embryosack gestattet. Solche Fälle sind aber recht selten. Man wird also auch beim Studium des Eiapparates gezwungen sein, stets mehrere Schnitte miteinander zu kombinieren.

Häufig sind die Samenanlagen soweit gedreht, daß sie senkrecht zur Ebene des Funiculus und der Placenta stehen, eine Tatsache, auf die bereits LONGO (1910, 69 bei *Impatiens scabrida*) und SAUER (1933, 431) hingewiesen haben.

Die Samenanlage ist tenuinucellat, syndermal (DAHLGREN 1934, 107) bitegmisch. Die primäre Archesporzelle wird direkt ohne Abgabe von Deckzellen zur Makrosporenmutterzelle. Das Archespor ist einzellig. In seltenen Fällen konnten zwei Makrosporenmutterzellen beobachtet

werden (STEFFEN 1948) und damit DAHLGRENs Beobachtungen an *Impatiens glanduligera* (1934, 109: 2 und einmal 3 Archesporzellen) und LONGOs Beobachtung an *Impatiens Balsamina* (1910, 672/73: 2 und einmal 3 Archesporzellen) bestätigt werden.

Bei *Impatiens glanduligera* werden 4 Makrosporen in Tetradenlage gebildet. Die untere, chalazale wird zum Embryosack, die oberen degenerieren, wie aus Fig. 1 der Abb. 1 eindeutig hervorgeht (die beiden oberen Makrosporen liegen in der Abbildungsebene hintereinander und sind durch verschieden starke Auszeichnung kenntlich gemacht). DAHLGREN macht über die Makrosporenzahl keine Angaben, er bildet lediglich eine Makrosporendyade ab (1934, 106, Abb. 4). In den folgenden Abb. 5a und b sind die abortierten Makrosporen nicht mehr gezeichnet. Sie sind schon im 4—8 Kernstadium des Embryosackes soweit zerdrückt, daß sie nur schwer (Abb. 1, Fig. 2 und 3) oder gar nicht mehr nachweisbar sind. *Impatiens glanduligera* fügt sich also mit ihrer Embryonalentwicklung dem Normaltyp von SCHNARF ein.

An dieser Stelle sei auch noch etwas über die Verwandtschaftsverhältnisse der Kerne und über die Zellbildung im Embryosack nachgetragen, da sich bei DAHLGREN keine und auch sonst in der Literatur wenig beweiskräftige Angaben über diesen Gegenstand finden. Die Fig. 2 der Abb. 1 zeigt die genetische Beziehung der Kerne ganz klar. (Auf weitere Abbildungen habe ich aus Gründen der Raumersparnis und um Wiederholungen DAHLGRENs zu vermeiden, verzichtet.) Die beiden Synergidenkerne und die zwei Antipodenkerne sind bereits durch Wandbildung von dem mittleren noch 4 kernigen Zellraum getrennt. Diese Zellen sind als Kernpaar deutlich kenntlich. Im zentralen Plasma, das noch keine Vakuole ausgebildet hat (vgl. auch dazu Abb. 1, Fig. 3 und DAHLGREN 1934, Abb. 5 und 6 und STEFFEN 1946), liegen zwei deutlich erkennbare Kernpaare. Die beiden mittleren Kerne sind bereits durch einen geringen Größenunterschied als Polkerne vom Eikern und dritten Antipodenkern unterschieden. Die Fig. 3, Abb. 1, zeigt nun auch diese beiden Kerne durch eine Wand vom mittleren 2 kernigen Raum getrennt. Die beiden Polkerne haben weiterhin an Größe zugenommen. Die Zellbildung im Embryosack erfolgt also hier sukzedan, wie es STENAR (1925) für *Entelea palmata* beschrieben hat.

Demnach sind also die beiden Synergiden Schwesterzellen, Eizelle und oberer Polkern sind ebenfalls aus einem Kern entstanden. Beide Paare bilden zusammen eine Vierergruppe, die auf einen Ursprungskern zurückgeht. Die andere Vierergruppe setzt sich zusammen aus dem unteren Polkern und den drei Antipoden, wobei wieder 2 Antipoden (in Fig. 2 der Abb. 1 bereits mit einer Membran umgeben) und der untere Polkern und die dritte Antipode, die die Membran zuletzt ausbildet (Abb. 1, Fig. 3), zusammengehörig sind.

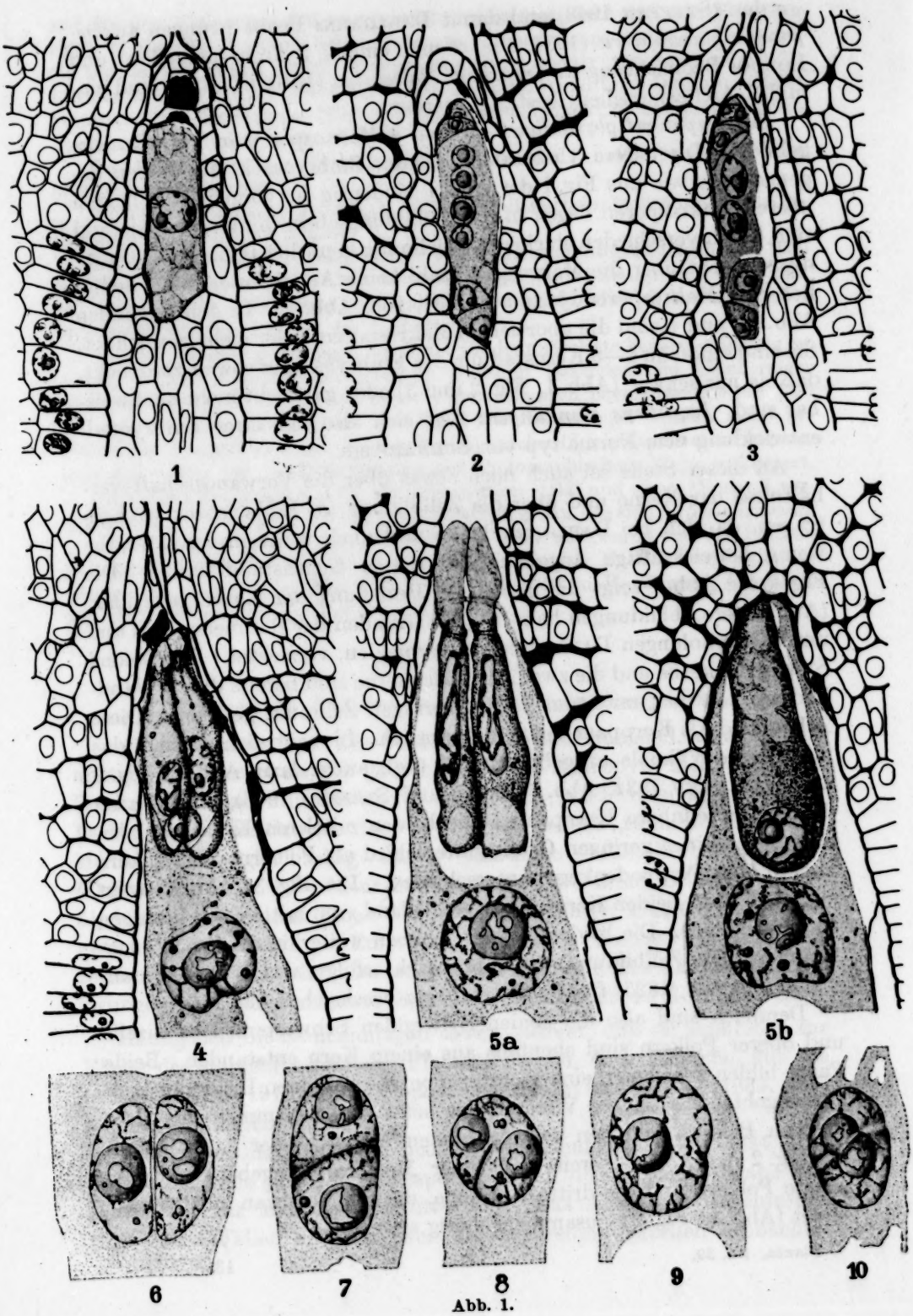


Abb. 1.

Die Antipoden sind, wie bereits DAHLGREN (1934, 110) betont hat, und wie es auch OTTLEY (1918, 295) bei *Impatiens Sultani*, SCHÜRHOFF bei *Hydrocera triflora* (1931, 343) und in seiner zusammenfassenden Literaturübersicht allgemein für die Balsamineen beschrieben haben, von so ephemerer Natur, daß sie im voll entwickelten, befruchtungsreifen Embryosack nicht mehr aufzufinden sind. Dies kann ich auf Grund meiner eigenen Untersuchungen an Balsamineen ganz allgemein bestätigen.

Mit dieser Ergänzung zu DAHLGRENs Arbeit ist nunmehr die Entwicklungsgeschichte des Embryosackes von *Impatiens glanduligera* vollständig bekannt. Gerade die Angaben über die Makrosporenzahl bei den Balsamineen sind in vielen Fällen noch unsicher (vgl. SCHÜRHOFF 1931).

Der sehr lang gestreckte Nucellus wird bei einem normal entwickelten Embryosack bis auf einen geringen Rest resorbiert. Die innerste Schicht des inneren Integuments wird zum Endothel (Abb. 1, Fig. 1—5 und Abb. 2, Fig. 1b; die Grenzlinie zwischen Nucellus und innerem Integument ist durch eine dickere Linie, die Endothelzellen selbst durch Einzeichnen der Kerne mit ihren Kernstrukturen kenntlich gemacht). Auch darin gleicht *Impatiens glanduligera* den meisten bisher untersuchten Balsamineen. Nur *Impatiens Balsamina* bildet kein Endothel aus, wie LONGO (1910, 668) bereits betont hat. Diese Beobachtung kann ich mit DAHLGREN (1934, 109) bestätigen.

Auf einem Medianschnitt durch die entwickelte Samenanlage sind besonders auffällig die verdickten Zellen der Integumente, die zuweilen schon im 4 Kernstadium des Embryosackes angelegt werden (Abb. 1, Fig. 2—5). Die verdickten Zellwände bestehen aus Zellulose, wie die Reaktion mit Chlorzinkjod ergab. Doch können diese Verdickungen nicht als kollenchymatisch im eigentlichen Sinne bezeichnet werden, da sie sich zunächst nur auf die Ecken beschränken und diese in Form sphärischer Dreiecke auskleiden (Abb. 1, Fig. 3). Erst später beobachtet man in zunehmenden Maße eine Verbindung dieser Eckenverdickungen durch Auflagerungen, die längs den Radialkanten der Zellen verlaufen (Abb. 1, Fig. 2, 4 und 5 und Abb. 2, Fig. 1g). Diese Auflagerungen erreichen jedoch meist nicht

Abb. 1. *Impatiens glanduligera*. Vergrößerung 700fach. Eisenhämatoxylin-Färbung. 1—5 Embryosackentwicklung in Längsschnitten (Grenze Nucellus/inneres Integument durch stärker ausgezogene Linie, Endothelzellen selbst durch Einzeichnen der Kerne und deren Kernstrukturen kenntlich gemacht. Nukleolen meist aus mehreren Schnitten in einer Abbildung vereinigt.) 1 Embryosack 1kernig, die 3 abortierten Makrosporen oberhalb der einen fertilen; 2 Embryosack 8kernig: Synergiden und 2 Antipoden bereits zellig differenziert; 3 Embryosack 8kernig: Eiapparat und Antipoden ausgebildet; 4 junger Eiapparat, Synergiden Fadenapparat bildend, Polkerne zu sekundärem Embryosackkern verschmolzen; 5 Eiapparat völlig differenziert, Polkerne verschmolzen. 5a und b sind aufeinander folgende Schnitte; 5a Synergiden; 5b befruchtungsreife Eizelle; 6—10 normale Verschmelzung der Polkerne (alle Figuren gleich orientiert: Längsachse des Embryosackes mit Längsachse der Abbildung gleichlaufend, mikropylares Ende stets nach oben gerichtet); 6 Polkerne unverschmolzen; 7 Polkerne verschmelzend, Berührungsmembran deutlich; 8 beginnende Auflösung der Berührungsmembran; 9 Berührungsmembran bis auf einen geringen Rest (rechts seitlich) gelöst; 10 Verschmelzung beendet, auf der Oberfläche des Verschmelzungskernes nur noch Ringfurche sichtbar. Beginnende Verschmelzung der großen Nukleolen.

die Stärke der Eckenverdickungen; nur dort, wo zwei benachbarte Ecken so aneinander stoßen, daß die Verdickungen verschmelzen, erscheint ein einheitlich dicker Streifen (Abb. 1, Fig. 2, 4 und 5a). Ähnliche, wenn auch geringere Verdickungen scheinen nach den Abbildungen OTTLEYS (1918, Tafel XIV, Fig. 9 und 14) bei *Impatiens Sultani* vorzukommen. Sie geben bei Behandlung mit fuchsinschwefliger Säure eine rote Pseudofärbung (FEULGEN, 1926, 1068; MILOVIDOV 1936, 574 und 1949, 516).

Auffällig ist, daß sich die Zellen um die Mikropyle bei der Färbung mit Rutheniumrot intensiver färben als die übrigen Zellen der Integumente. Dies ist besonders bei schwacher Vergrößerung sehr deutlich zu sehen und wäre als Anreicherung von Pektinen oder pektinhaltigen Stoffen zu deuten. Zwar ist die Färbung mit Rutheniumrot nach MOLISCH (1923, 355 dort weitere Literatur) keine einwandfreie Reaktion auf Pektine, da auch Glykogen und Isolichenin den Farbstoff stark speichern, doch wird durch den positiven Ausfall der Färbung die Vermehrung von Pektin oder pektinhaltigen Stoffen am Mikropyleingang zum mindesten wahrscheinlich gemacht (vgl. die Angaben von CARROLL 1919, 170).

Die Wandung des Embryosackes pflegt sich unter dem Einfluß der Fixierung von den Zellen des Endothels abzuheben, wie aus den Fig. 4, 5a und b der Abb. 1 und Fig. 1b der Abb. 2 hervorgeht. Dies ist besonders an Querschnitten des Embryosackes gut nachweisbar (Abb. 2, Fig. 1a—h). Hier ist die Makrosporenwand auf den Abbildungen stets als Begrenzungslinie sichtbar. Das Cytoplasma hat sich meist etwas von ihr zurückgezogen. Es wird an dieser Stelle ausdrücklich entgegen vielen anders lautenden Angaben in der Literatur darauf hingewiesen, daß die Makrosporenwand erhalten bleibt.

b) Polkerne. Die beiden Polkerne liegen einander genähert im oberen, mikropylaren Teil des Embryosackes. Sie sind beide in dichtem Cytoplasma eingebettet und jeder von Cytoplasma umgeben. Im unteren Teil des Embryosackes, also unterhalb der Polkerne, befindet sich eine große Vakuole.

Die Polkerne sind meist kugelig bis schwach ellipsoid. Ihr Größenwachstum zeigt ein Vergleich der Fig. 2, 3 und 6 der Abb. 1. Sie sind also von einer Größe von 6 μ im 8-Kernstadium des Embryosackes auf eine Größe von 13/30 μ zur Zeit der Verschmelzung gewachsen (Abb. 1, Fig. 6).

Beide Polkerne sind in Form und Kernstruktur gleich.

An dieser Stelle ist es notwendig, etwas zur Kritik der HEIDENHAINschen Eisenhämatoxylinfärbung zu sagen (vgl. auch SCHAEDE, 1935; Soeur DOUTRELIGNE, 1942, und MILOVIDOV 1949, 373). Der Hämatoxylinmethode haftet das Subjektive einer Färbung an (man denke nur an die in das Ermessen des Ausführenden gestellte Differenzierungsdauer), gegenüber der objektiven Darstellung mittels Nuklealreaktion. Bei der histologischen Eisenhämatoxylinfärbung werden die Proteinstrukturen ohne Rücksicht auf ihren Gehalt an Thymonukleinsäure gefärbt, so

daß zwischen dieser und der histochemischen Nuklealreaktion Färbungsunterschiede bestehen, wie z. B. ein Vergleich der Fig. 1 und 2 der Abb. 9 beweist.

Bei intensiver Hämatoxylinfärbung treten vor allem Chromatinkörnchen [ich gebrauche im Gegensatz zu MILOVIDOV den Ausdruck „Chromatin" im alten, morphogenetischen, also im Sinne BOVERIS, so daß er chemisch unbelastet ist, und gebe folgerichtig durch die Adjektive „nukleal und anukleal" Vorhandensein oder Fehlen der Thymonukleinsäure an (vgl. auch MILOVIDOVS Diskussion über die Begriffsdefinition 1949, 454 ff.)] in Erscheinung, die sich unschwer als Chromomeren deuten lassen und durch geringer färbbare Fadenstücke verbunden sind. Diese Chromomeren reagieren in jungen Polkernen noch Feulgen-positiv, verlieren jedoch später ihre Nuklealität.

Abgesehen von dem Wechsel der Nuklealität, der uns später bei der Besprechung des Eikernes beschäftigen wird, ist die Kernstruktur interessant. Chromomerenstruktur ist bei Balsamineen bisher nur in der meiotischen Prophase (vgl. z. B. BOLLE und STRAUB 1942) beschrieben worden. Um ein prophaseähnliches Stadium aber muß es sich auch bei den hier beobachteten Strukturen handeln. Die Struktur des ruhenden Chromocentren-Kernes (vgl. SCHAEDE 1935 und 1936) ist so typisch, daß eine Verwechslung mit ihr nicht möglich ist. Als einen typischen „Spiremkern" im Sinne MARQUARDTS (1940/41) läßt sich jedoch die beobachtete Kernstruktur gemäß den dort gegebenen Definitionen nicht ansprechen. Insoweit allerdings können wir in unserem besonderen Fall MARQUARDT folgen, als wir auch hier einen Ruhekern vor uns haben, dessen Besonderheit physiologisch *und* entwicklungsgeschichtlich bedingt ist.

Der physiologische Zustand des Kernes ist charakterisiert durch das rasche Kernwachstum unter starker Wasseraufnahme (vgl. Abb. 1, Fig. 2, 3 und 6), wobei wahrscheinlich zwei Stadien zu unterscheiden sind: 1. die Ausbildung der Chromosomenstruktur und 2. ihre starke Streckung und Verquellung der Matrix. Ob das erste Stadium allein physiologisch durch den Quellungszustand bedingt ist oder ob hier entwicklungsgeschichtliche Momente eine Rolle spielen, wage ich nicht zu entscheiden. Das zweite Stadium ist sicherlich allein durch den Quellungszustand bedingt. Hierbei findet nur eine Streckung unter Sichtbarwerden der Chromomeren statt.

Die Chromomerenstruktur der haploiden, stark wachsenden Prophasekerne des Embryosackes (z. B. Abb. 1, Fig. 1) bekräftigt diesen Schluß. Nach TISCHLER (1942, 120) tritt in Übereinstimmung mit SHARP Chromomerenstruktur bei abnehmender Gesamtchromatizität auf. SCHNARF (1941 b, 203) möchte das Anuklealwerden der weiblichen Kerne allein auf die starke Vergrößerung dieser Kerne zurückführen. Jedoch übersieht er bei seiner Kritik von PAVULANS das entwicklungsgeschichtliche Moment. Die starke Quellung des Kernes und die Streckung des Chromatinfadens beschränkt nur die Nuklealität auf die Chromomeren.

Das Anuklealwerden dieser Chromomeren erfolgt aber erst später ohne erneute Kernvergrößerung. Auf diesen entwicklungsgeschichtlichen Tatbestand (so möchte ich diese physiologisch zunächst nicht faßbare Strukturänderung nennen) werde ich beim Studium des

Eikernes einzugehen und ihn genau durch Abbildungen zu belegen haben. Der Nuklealitätswechsel erfordert im Eikern längere Zeit und läßt sich dort leichter studieren und vor allem platzsparend abbilden.

Beide Polkerne besitzen vor ihrer Verschmelzung meist je einen großen und einen kleinen Nukleolus (Abb. 1, Fig. 7). Diese Zahl kann als Primärzahl genommen werden, sie tritt auch im Eikern regelmäßig auf (Abb. 1, Fig. 5b). Um den Rahmen dieser Arbeit nicht zu überschreiten beschränke ich mich darauf, die sekundären Veränderungen im Nukleolenbestand zu beschreiben. Bemerkt soll noch werden, daß im 8-Kernstadium des Embryosackes es nicht möglich war, den kleinen Nukleolus neben dem riesig vergrößerten großen Nukleolus nachzuweisen (Abb. 1, Fig. 2), jedoch sind beide Nukleolen in den herangewachsenen Polkernen des zellig gegliederten, jungen, 8kernigen Embryosackes deutlich sichtbar (Abb. 1, Fig. 3). In seltenen Fällen wird im Polkern selbst schon die Zahl der kleinen Nukleolen vermehrt, doch wurden nie mehr als zwei kleine Nukleolen neben einem großen Nukleolus beobachtet (Abb. 1, Fig. 6 rechter Polkern). Die Lage der Nukleolen im Polkern zueinander ist variabel. Dies ist nicht verwunderlich, da bereits in einem so weit differenzierten Kern sekundäre Lageveränderungen der spezifisch schwersten Kernteile aufgetreten sein können.

c) Verschmelzungskern = sekundärer Embryosackkern. Die Verschmelzung der beiden Polkerne erfolgt frühzeitig, stets vor dem Eintreffen des Pollenschlauches, also viel früher als es z. B. OTTLEY (1918, 306/7) für *Impatiens Sultani* beschrieben hat, wo die Verschmelzung erst nach Eintreffen des Pollenschlauches erfolgte. Die Verschmelzung findet oft bereits in einem noch nicht vollständig ausgebildeten Embryosack statt (Abb. 1, Fig 4).

Die Polkerne legen sich zur Verschmelzung meist nicht genau zentrisch aneinander; dabei entsteht eine Abplattungsfläche (Abb. 1, Fig. 6 und 7), die in Oberflächenansicht als Berührungslinie oder räumlich gesehen als mehr oder minder ellipsoide Ringfurche erscheint.

Die Lage der verschmelzenden Kerne zueinander und somit die Lage der Verschmelzungslinie beider Kerne zur Embryosackachse ist variabel und augenscheinlich zufällig, wie aus einem Vergleich der Fig. 6—10 der Abb. 1 hervorgeht (die Verschmelzungskerne sind stets so orientiert, daß die Längsachse des Embryosackes mit der Längsachse der Abbildung übereinstimmt; und auch die räumliche Anordnung im Embryosack ist auf der Abbildung beibehalten, so daß der obere Polkern auch in der Abbildung stets oben liegt). DAHLGRENS Abb. 6, 7, 8a und b bestätigen diese Beobachtung. Diese Tatsache hat eine besondere Bedeutung, denn die Polkerne scheinen nach diesem Befund noch nicht polarisiert zu sein. Erst der befruchtete, sekundäre Embryosackkern, also der sekundäre Endospermkern, hat wieder eine bestimmte Polarität insofern, als die Kernspindel stets in Richtung der Embryosackachse ausgebildet wird (vgl. auch STEFFEN 1946).

Die Auflösung der Berührungsmembran erfolgt schrittweise von der einen Seite der Abplattungsfläche zur anderen fortschreitend. Die

Fig. 6—10 der Abb. 1 geben einen guten Überblick über diese Verschmelzungsvorgänge. In Fig. 9 ist rechts seitlich nur noch ein kleines Stück der Verschmelzungsmembran zu sehen.

Die Eigenform der verschmelzenden Kerne bleibt trotz der völligen Auflösung der Berührungsfläche noch lange erhalten, was auf eine hohe Viskosität oder geringe Elastizität schließen läßt. In der Oberflächenansicht bemerkt man dann eine Einschnürung des sekundären Embryosackkernes, eine Ringfurche, die den Kern an der Verschmelzungsstelle umläuft. Diese Ringfurche ist also nur noch eine Oberflächenstruktur des Kernes (Abb. 1, Fig. 10) und somit eine Struktur der Kernwand; sie kann auch noch im Stadium der Befruchtung vorhanden sein.

Bei weiterem Wachstum des sekundären Embryosackkernes (also Viskositätserniedrigung durch Wasseraufnahme) verschwindet die Ringfurche und der Kern geht in ellipsoide Form über, wobei seine Längsachse stets in Richtung der Längsachse des Embryosackes liegt (Abb. 2, Fig. 4, 5, 8 und 9). Das Wachstum des sekundären Embryosackkernes ist recht erheblich, wie aus einem Vergleich der Figuren hervorgeht; jedoch stellen die Fig. 7—9 der Abb. 2 stark gequollene, hypertrophierte Kerne dar, wie sie besonders in alten, unbefruchtet gebliebenen Embryosäcken auftreten. Ähnliche Zustände sind von Cappelletti (1927) mehrfach beschrieben worden. Der Kern kann dabei von einer Anfangsgröße von 20 μ Durchmesser auf maximal 50 μ Durchmesser anschwellen. Während des Wachstums findet eine Verdickung der Chromatinfäden statt.

Bei der Verschmelzung der Polkerne kann Plasma eingeschlossen werden, wie es bereits Tahara (1921, 34) bei den Polkernen von *Erigeron annuus* gesehen hat. Der Einschluß von Cytoplasma erfolgt in 25% aller Verschmelzungskerne (es wurden 1400 Verschmelzungskerne daraufhin untersucht) und kann in seiner Häufigkeit nicht als pathologisch angesehen werden. Die Fig. 2, 1a, 3, 8, 4 und 9 der Abb. 2 geben verschiedene Stadien dieses Einschlusses wieder. Zunächst hat das eingeschlossene Plasma dieselbe Färbbarkeit wie das den Verschmelzungskern umgebende Cytoplasma, es behält auch zunächst seine Lage in der Verschmelzungsebene der beiden Kerne bei (Abb. 2, Fig. 2), auch wenn die verschmelzenden Kerne bereits ihre Eigenform aufgegeben haben und der sekundäre Embryosackkern einheitlich erscheint. Allmählich läßt die Färbbarkeit des eingeschlossenen Cytoplasmas etwas nach, es beginnt sich als mehr oder minder flüssiges System in einer Flüssigkeit abzukugeln (Abb. 2, Fig. 1a und 3), zuweilen entstehen statt einer auch mehrere Cytoplasmakugeln (Abb. 2, Fig. 4). Das eingeschlossene Cytoplasma bekommt ein fädiges Aussehen, Entmischungsvakuolen treten auf, die schließlich zu einer größeren zentralen Vakuole zusammenfließen (Abb. 2, Fig. 1a, 3, 4 und 8).

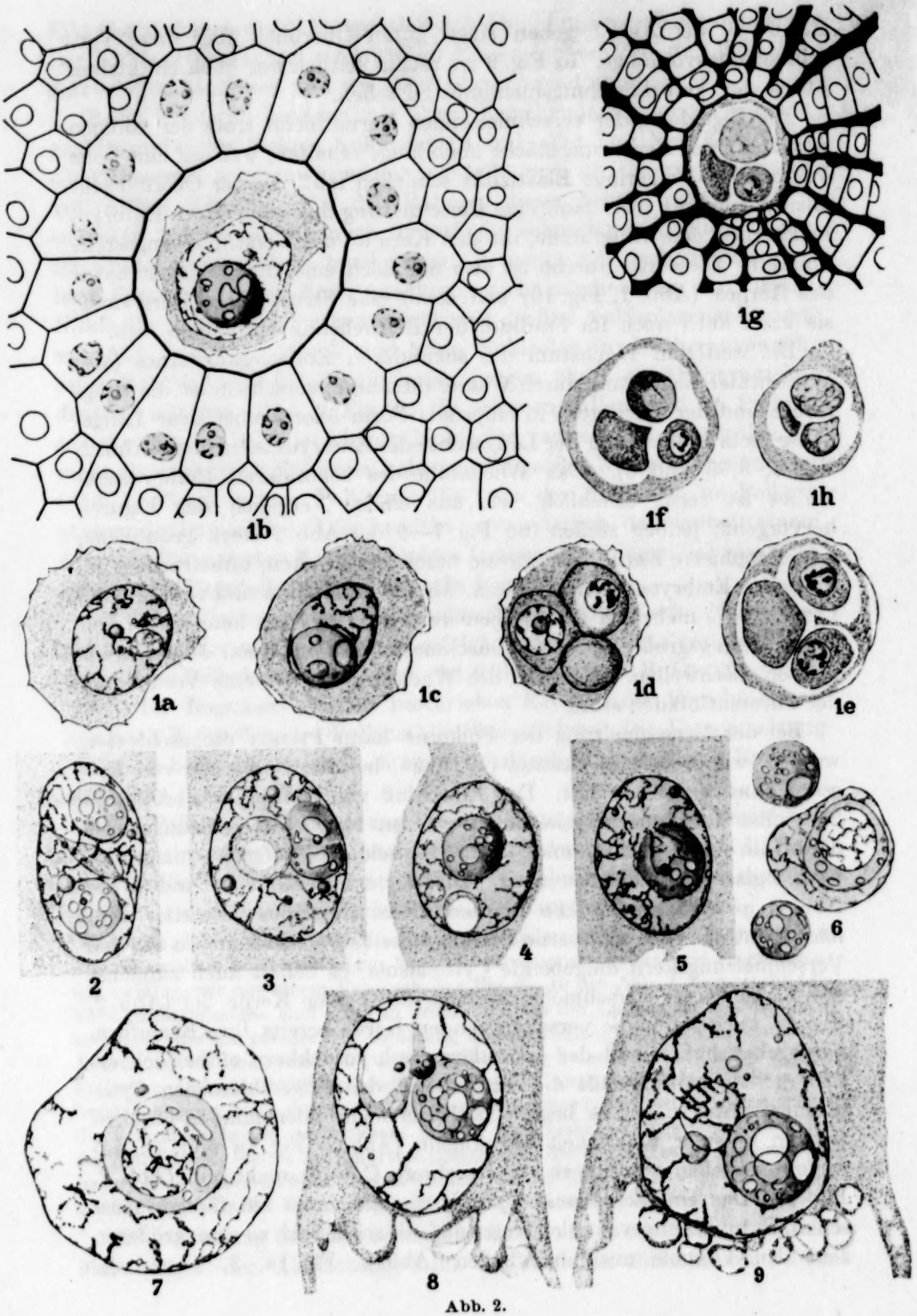


Abb. 2.

Diese Vakuole vergrößert sich immer mehr, wobei das eingeschlossene Cytoplasma fortschreitend vermindert wird und nur noch einen dünnen Belag um die zentrale Vakuole bildet. Fig. 4 der Abb. 2 stellt einen interessanten Fall dar, weil an den beiden isolierten Plasmaeinschlüssen diese Vakuolisation und Verminderung des Plasmas in verschiedenen Stadien deutlich sichtbar wird. Im Endzustand erscheint eine Vakuole im Kern, wie sie die Fig. 9 der Abb. 2 zeigt, die keine Cytoplasmareste mehr aufweist und die als Einzelstadium undeutbar wäre. Eine Entleerung dieser Kernvakuolen in das umgebende Cytoplasma, wie es Němec bei seinen Untersuchungen an *Gagea* (1912) für wahrscheinlich hält, konnte ich nicht beobachten (vgl. auch Milovidov 1949, 233, dort weitere Literatur).

Sekundäre Formveränderungen des Verschmelzungskernes konnten des öfteren festgestellt werden. Sie kamen dadurch zustande, daß sich der Verschmelzungskern auf den Eiapparat gelegt hatte. Die Deformation des sekundären Embryosackkernes konnte dabei so stark sein, daß er lappenförmig die Eizelle oder die Synergiden umfaßte, und in ihm das Negativ des Eiapparates abgedrückt schien.

Von größerem Interesse ist ferner das Verhalten der Nukleolen im Verschmelzungskern. Die Nukleoli der verschmelzenden Kerne haben die gleiche Größe. Die großen Nukleolen variieren höchstens um 1 μ im Durchmesser. Im Verschmelzungskern sind gleich nach der Verschmelzung die beiden großen und kleinen Nukleoli nachweisbar (Abb. 1, Fig. 7 und 10). Ihre Lage im Verschmelzungskern ist variabel, jedoch bleiben die kleinen Nukleoli zunächst in ihrem ursprünglichen Kernraum. Dies kann auch noch nach der Verschmelzung der großen Nukleoli beobachtet werden (Abb. 1, Fig. 9 und 10).

Abb. 2. *Impatiens glanduligera*. Vergrößerung 700fach. Eisenhämatoxylin-Färbung. 1 a—h Aufeinanderfolgende Querschnitte durch den vollentwickelten, befruchtungsreifen Embryosack (zwischen 1 c und 1 d sind 2 10 μ dicke Schnitte, die nur das Cytoplasma des Embryosackes getroffen hatten, fortgelassen); 1 a—c Querschnitte durch den sekundären Embryosackkern, 1 a mit eingeschlossenem Cytoplasma; 1 d—h aufeinanderfolgende Schnitte durch den Eiapparat; 1 d Eizelle links, Synergiden rechts liegend. In der unteren Synergide die große Vakuole angeschnitten, in der oberen unter der Vakuole der bereits angeschnittene Zellkern; 1 e beide Synergidenkerne angeschnitten; 1 f und g Fadenapparat der oberen Synergide angeschnitten; 1 h Fadenaparat beider Synergiden angeschnitten; 2—4 Polkernverschmelzung mit Plasmaeinschluß (2 und 3 Längsschnitte, 4 Querschnitt); 2 eingeschlossenes Cytoplasma noch in der Verschmelzungsebene der Polkerne; 3 eingeschlossenes Plasma vakuolisiert, große Nukleolen verschmelzend; 4 zwei stark vakuolisierte Plasmaeinschlüsse im sekundären Embryosackkern (die Nukleolen wurden der Übersichtlichkeit wegen nicht mit eingezeichnet); 5—7 Chromatineinschluß im großen Verschmelzungsnukleolus des sekundären Embryosackkernes (Längsschnitte); 5 „Einwandern" des Chromatins in geöffnete Nukleolarvakuole; 6 Schnittbild des sekundären Embryosackkernes mit „ringförmigem" Nukleolus und eingeschlossenem Chromatin. Links seitlich, oben und unten die Kugelkappen des reich vakuolisierten Nukleolus, die auf das Schnittbild von beiden Seiten aufgesetzt den Nukleolus zur Vollkugel ergänzen. 7 Nukleolarvakuole fast ganz geschlossen; 8—9 Bildung von „Plasmabällen" und Ausstoßung in die Embryosackvakuole (Längsschnitte); 8 Bildung der in die Vakuole hineinragenden „vesiculae" (stark vakuolisierter Plasmaeinschluß im sekundären Embryosackkern); 9 „Plasmaballen" völlig abgekugelt und zum Teil bereits ausgestoßen (im sekundären Embryosackkern Endzustand des Plasmaeinschlusses: Vakuolenbildung im Kern!).

Die Primärzahl von zwei großen und zwei kleinen Nukleoli wird sehr bald geändert. Die Zahl der großen Nukleolen wird durch Verschmelzen auf einen vermindert und die Zahl der kleinen Nukleolen auf maximal 7 vermehrt (Abb. 1, Fig. 4, 5a und b und 8, Abb. 2, Fig. 5, 7 und 8). Es wurden niemals mehr als 8 Nukleolen insgesamt in einem Kern beobachtet. Eine Verschmelzung zweier kleiner Nukleoli oder eines kleinen mit einem großen konnte nie beobachtet werden.

Die Verminderung der Nukleolenzahl erfolgt durch Verschmelzen der beiden großen Nukleolen, wie es OTTLEY (1918, 307; Tafel XV, Fig. 42 und 43) für *Impatiens Sultani* beschrieben hat, wo die beiden allein vorhandenen Nukleoli zu einem verschmelzen. Auch bei *Impatiens parviflora* kann nach den Angaben SCHÜRHOFFS (1931, 335) eine derartige Verschmelzung vermutet werden, doch sprechen seine Abbildungen (Tafel XVI, Abb. 4 und 5) dagegen. Form- und Lageveränderungen der Nukleolen sind von geringer Bedeutung, da die mehr oder minder zähflüssigen Körper ihre Form als Flüssigkeitstropfen ± leicht ändern können und als spezifisch schwerster Anteil des Kernes auch bestrebt sind, gegen den Widerstand der ± viskosen Karyolymphe der Schwerkraft folgend sich zu lagern. Zur Verschmelzung führende Lageveränderungen der Nukleoli sind auf den Fig. 9 und 10 der Abb. 1 dargestellt. OTTLEYS Beobachtung (1918, 307), wonach nur der eine Nukleolus „wandert" und auch nur teilweise mit dem Nukleolus des anderen Polkernes verschmilzt, scheint nach eigenen Untersuchungen unglaubwürdig. Die Verschmelzung der Nukleolen geht, wie bei Verschmelzung zweier Flüssigkeitstropfen nicht anders zu erwarten, sehr schnell vor sich. Verschmelzungsstadien wie Fig. 10 auf Abb. 1 und Fig. 3 auf Abb. 2 wurden nur selten beobachtet. Fig. 10 (Abb. 1) zeigt beide Nukleoli im Augenblick der Fusion, die Eigenform der Nukleoli ist noch erhalten, in Fig. 3 (Abb. 2) ist die Verschmelzung bereits vollendet, nur die Einschnürung erinnert noch an die Fusion. Die Vakuolarsysteme der Nukleolen sind noch nicht verschmolzen, dies pflegt ein wenig später zu geschehen.

In den meisten sekundären Embryosackkernen ist nur noch ein großer Nukleolus sichtbar (Abb. 1, Fig. 4, 5, 9 und Abb. 2, Fig. 1b und c, 4—9), der an seiner Größe leicht als ein Verschmelzungsprodukt erkannt werden kann.

Die Vermehrung der kleinen Nukleoli erfolgt durch Neubildung; Zerteiltwerden eines großen Nukleolus, wie es in Haustorienkernen so häufig ist, oder eine Durchschnürung kleiner Nukleolen wurden nie beobachtet. Die Neubildung erfolgt augenscheinlich sehr schnell, da die Nukleolen meist frei im Kernraum beobachtet werden (Abb. 1, Fig. 5 bis 10, Abb. 2, Fig. 2—9). Zuweilen läßt sich in stärker färbbaren Stadien die Entstehung der kleinen Nukleoli an den Chromatinfäden beobachten, wobei die Nukleolen den Fäden aufzusitzen scheinen (Abb. 1, Fig. 4,

Abb. 2, Fig. 7 Mitte unten und rechts). Da in diesem Zustand eine Analyse der Chromosomen nicht möglich ist, ist über den Entstehungsort der Nukleolen nichts Genaues zu sagen. Zum mindesten lösen sie sich sehr schnell von den Chromatinfäden. Die Neubildung kleiner Nukleolen erstreckt sich über längere Zeit; so erklärt es sich, daß die beobachteten kleinen Nukleoli in ihrer Größe untereinander verschieden sind (besonders Abb. 2, Fig. 8 und 9). Die Bildung der neuen kleinen Nukleolen ist übrigens unabhängig von der Verschmelzung der beiden großen. Neubildung von kleinen Nukleolen wurde bereits vor Verschmelzen der großen beobachtet (Abb. 1, Fig. 8, Abb. 2, Fig. 2). Die Maximalzahl der beobachteten kleinen Nukleolen beträgt 7. Eine Ausstoßung von Nukleolen aus dem Kernraum konnte nicht beobachtet werden. Der Nukleolenreichtum und vor allem die variable Zahl der Nukleolen in den sekundären Embryosackkernen macht es also unmöglich, den Eintritt der Befruchtung etwa durch die Vermehrung der Nukleolenzahl festzustellen.

In den großen Nukleolen der Polkerne (Abb. 1, Fig. 6—8, Abb. 2, Fig. 2) und vor allem des Verschmelzungskernes (Abb. 1, Fig. 4, 5a und b und 8, Abb. 2, Fig. 1b und c, 3—9) treten meistens Entmischungströpfchen (in der Literatur „Vakuolen" genannt) auf, jedoch keine festen Einschlüsse. Dieselbe Beobachtung hat auch Ottley (1918, 306/7) bei den Nukleolen der Polkerne von *Impatiens Sultani* gemacht, wo aus mehreren Vakuolen eine große entsteht. Daß es sich bei diesen in den Präparaten beobachteten Vakuolen um Vitalstrukturen und nicht um Artefakte handelt, braucht wohl kaum noch betont zu werden (vgl. auch Milovidov 1949, 138). Der Entmischungsvorgang ist weder an das Alter noch an die Größe der Nukleolen gebunden (kleine Nukleoli mit Vakuolen siehe Abb. 2, Fig. 8 und 9), wenngleich auch die am stärksten vakuolisierten Nukleoli stets in den kurz vor der Verschmelzung mit den Spermakernen stehenden sekundären Embryosackkernen zu sehen sind. Die Entstehung der Vakuolen läßt sich natürlich am besten an den großen Nukleoli der sekundären Embryosackkerne beobachten. Zunächst erscheinen die Vakuolen peripher, d. h. an der Kugeloberfläche, was für ein geringeres spezifisches Gewicht der Entmischungströpfchen sprechen würde. In den Präparaten sind diese verhältnismäßig kleinen Vakuolen nur um ein Geringes heller als die Gesamtsubstanz des Nukleolus. Als Flüssigkeit in einer Flüssigkeit nehmen sie Kugelform an (Abb. 1, Fig. 6, Abb. 2, Fig. 1b und c, 2, 4, 8 und 9), Verschmelzungsstadien lassen unregelmäßige Figuren auftreten (Abb. 1, Fig. 4, 5a und b, 7 und 10, Abb. 2, Fig. 5), die dann zu größeren (darum in den Präparaten auch heller erscheinenden) mehr oder minder zentral gelegenen Vakuolen zusammenfließen (Abb. 2, Fig. 8 und 9).

Der Vakuoleninhalt kann in den Kernraum entleert werden (siehe die Vakuolenöffnung: Abb. 1, Fig. 5b und 9, Abb. 2 Fig. 5 und 7).

In diesem Zusammenhang möchte ich hinweisen auf die gleichlautende Lebendbeobachtung von LENOIR bei *Corydalis* (1923), wo eine Öffnung der Vakuolen gegen den Kernraum gesehen wurde; ebenso auf die Beobachtung LINSBAUERS an *Mesembryanthemum* (1932), der eine Entleerung der Nukleolusvakuolen in den Kernraum an lebendem Material beobachtet hat und dafür eine Abbildung gibt (1932, 11, Fig. 6). Ich habe diese Angaben geprüft und bin zu der Ansicht gekommen, daß bei den Nukleolen von *Impatiens glanduligera* Ähnliches vorliegt. An den Schnittpräparaten ließ sich häufig beobachten, daß bei der Öffnung einer Vakuole gegen den Kernraum Chromatinsubstanz in diese einströmt (Abb. 2, Fig. 5 und 7). Über den „eingewanderten" Chromatinfäden kann sich der Nukleolus wieder zu seiner normalen Kugelform schließen.

Auf diese Weise finden die an älteren Verschmelzungskernen häufig beobachteten Nukleolarstrukturen ihre Klärung. In Fig. 7 der Abb. 2 hat sich die Öffnung fast ganz wieder geschlossen. Interessant ist zu sehen, wie sich in diese kleine noch offene Spalte eine kleine Vakuole entleert. In der Fig. 6 (Abb. 2) hat sich der Nukleolus bereits wieder zu seiner Kugelform geschlossen. Im Schnitt sieht man die etwas exzentrisch gelegene große Vakuole mit den eingeschlossenen Chromatinfäden, die dem Nukleolus im Schnitt ein ringförmiges Aussehen verleiht. Um nun dem immerhin möglichen Einwand zu begegnen, die Chromatinfäden hätten sich in einer Eindellung des Nukleolus diesem eng angeschmiegt und würden nur im Sinne einer optischen Täuschung [wie sie z.B. SCHAEDE (1935, 484—486) in anderem Zusammenhange aufklärt] in diesen hineinprojiziert, habe ich die zugehörigen durch den Schnitt abgehobenen Kugelkappen des Nukleolus aus den beiden Nachbarschnitten neben dem eigentlichen Schnitt abgebildet. Daraus erhellt also, daß das eingeschlossene Chromatin rings von Nukleolussubstanz umschlossen ist.

Die Zahl der bei pflanzlichen Objekten beobachteten Chromatineinschlüsse im Nukleolus ist besonders durch die Arbeit von MILOVIDOV (1940, vgl. auch 1949, 497) stark vermindert worden (vgl. auch TISCHLER 1942, 203). Hiernach bleibt nur noch diskutabel die Arbeit von JACHIMSKY (1937), der für seine Feulgenpositiven Einschlüsse bei den Antipodenkernen von *Aconitum napellus* eine ganze Anzahl von Deutungsmöglichkeiten aufzeigt. Da in den Nukleolen kleinere und größere Vakuolen beobachtet wurden (JACHIMSKY 1937, 611), wäre es immerhin möglich, daß bei Öffnung der Vakuolen Chromatin eingedrungen ist; auf diese Weise ließe sich auch das Zustandekommen des abgebildeten Fadens recht gut erklären. JACHIMSKY selbst hält es durchaus für möglich, daß das Chromatin in den Nukleolus hineingewachsen ist im Sinne der Deutung von HEITZ und BAUER (1933), oder daß der Nukleolus bei seiner schnellen Größenzunahme das Chromatin umwachsen hat.

Meine Ansicht, die ich am sekundären Embryosackkern von *Impatiens glanduligera* gewonnen habe, und die hier sicherlich gültig ist, stellt im Grunde nur eine Variante der HEITZ-BAUERschen Ansicht dar, indem sie die Öffnung der Nukleolarvakuolen als notwendige Voraussetzung für das Eindringen des Chromatins nimmt.

Die nachfolgende Tabelle (ein Auszug aus einem umfangreichen Protokoll) faßt die Messungen an den Ovula eines Fruchtknotens zusammen und gestattet in der Gegenüberstellung von sekundärem Embryosackkern und Eikern desselben Ovulums einen Vergleich der Kern- und

Nukleolengröße. — Ergänzend seien noch Durchschnittswerte für Kern und Nukleolen angegeben: sekundärer Embryosackkern (26 μ), Primärnukleolen: großer Nukleolus 10 μ, kleiner 1 μ. Fusionsnukleolen unvakuolisiert 11—18 μ, vakuolisiert bis zur Maximalgröße von 24,5 μ (einer der größten im Pflanzenreich überhaupt beobachteten Nukleoli!); Eikern (12 μ), großer Nukleolus 5 μ, kleiner 1 μ; Endothelkern (6 μ), großer Nukleolus 2 μ.

Die Vakuolisation eines Nukleolus wurde in der Tabelle durch das Zeichen + kenntlich gemacht. Der Quotient Nukleolarvolumen (V_{nkl}) zum Volumen der Restsubstanz des Kernes (V_k) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$V_{nkl} : V_k = 1 : x = 1 : \frac{R^3 - (r_1^3 + r_2^3 + \cdots r_n^3)}{r_1^3 + r_2^3 + \cdots r_n^3},$$

wobei R Kernradius und $r_1 \ldots r_n$ Radien der Nukleolen sind.

Bei vakuolisierten Nukleolen wurde die Berechnung des Nukleolarvolumens ohne Rücksicht auf die Vakuolisation durchgeführt. Eine exakte Berechnung der Vakuolen ist wegen ihrer überaus variablen Form und Größe nicht möglich.

In der Tabelle sind die Durchmesser in Mikron und das zugehörige Volumen [in (...) gesetzt] in Kubikmikron angegeben. Die Volumina sind allgemein auf eine Dezimale abgerundet.

Die Tabelle zeigt:

1. daß in Entmischung begriffene Nukleoli den Quotienten verfälschen (sekundärer Embryosackkern Nr. 1 und 3; Eikern Nr. 1). (Bei Literaturarbeit zu berücksichtigende Fehlerquelle!),

2. daß der $\pm$ konstant gewordene Quotient (sekundärer Embryosackkern 1 : 9,1—9,9; Eikern 1 : 9,4—9,9) durch Einführung von Cytoplasma bei der somatischen Verschmelzung der Polkerne eindeutig geändert wird (Nr. 6 sekundärer Embryosackkern 1 : 3,1). Dabei treten wahrscheinlich in Umkehrung des Casperssonschen Prinzips durch den Resorptionsprozeß, dem das eingeschlossene Plasma unterliegt, Eiweißstoffe (vermutlich Histon oder höhere Eiweiße) im Kern auf, die im Nukleolus gespeichert werden, da bei Einstellung des Plasmawachstums kein Bedarf mehr besteht und ein Abtransport also nicht erfolgt, abgesehen von der ebenfalls auftretenden Störung des Diffusionsgefälles (Ehrenberg 1946).

Der Quotient Nukleolarvolumen/Kernrestsubstanz kann nichts Exaktes über den Heterochromatin-Nukleolus Mechanismus aussagen, da im Kernrestvolumen Karyolymphe und Gesamtchromatin enthalten sind. Durch das Fehlen der Bezugsgröße Cytoplasma (unregelmäßige, stark vakuolisierte Räume, die einer Berechnung nicht zugänglich sind) läßt sich eine quantitative Beziehung zwischen Nukleolengröße und Cytoplasmavermehrung nicht herstellen. Jedoch kann man summarisch im Sinne Casperssons Vermehrung der Nukleolensubstanz im wachsenden Embryosack und in der Eizelle bei weitgehender Auflockerung des Heterochromatins feststellen.

Tabelle 1. *Quotient Nukleolarsubstanz zu Kernrestsubstanz im Ei- und sekundärem Embryosackkern.*

Durchmesser in Mikron; das zugehörige Volumen in Kubikmikron, in (...) gesetzt und auf eine Dezimale abgerundet. + Vakuolisation des Nukleolus.

Nr.	Sekundärer Embryosackkern				Eikern			
	Kern	Nukleolen		Quotient	Kern	Nukleolen		Quotient
		groß	klein			groß	klein	
1	24 (7240)	12 + (905,2)	1,5 (1,8) 1,0 (0,5)	1:6,843 *1:6,8*	8 (268,2)	5 + (65,4)	1,2 (1,0)	1:3,039 *1:3*
2	26 (9200)	12 (905,2)	2 (4,2) 1,5 (1,8) 1,5 (1,8)	1:9,086 *1:9,1*	9 (381,7)	4 (33,5)	1,5 (1,8)	1:9,822 *1:9,8*
3	24,5 (7702)	12,5 + (1023)	1,5 (1,8) 1,5 (1,8)	1:6,654 *1:6,7*	10 (523,6)	4,5 (47,7)	1,2 (1,0)	1:9,766 *1:9,8*
4	26 (9200)	12 (905,2)	2 (4,2) 1,5 (1,8) 1,5 (1,8)	1:9,086 *1:9,1*	11 (697,1)	5 (65,4)	1,5 (1,8)	1:9,365 *1:9,4*
5	30 (14140)	13,5 (1288)	2 (4,2) 1,5 (1,8) 1,5 (1,8)	1:9,91 *1:9,9*	11 (697,1)	5 (65,4)	1,5 (1,8)	1:9,365 *1:9,4*
6	30 (14140) *Plasma-Einschluß*	18,0 (3053)	9 (391,7) 3 (14,1) 2 (4,2) 2 (4,2) 1,5 (1,8)	1:3,085 *1:3,1*	13,5 (1288)	6 (113,1)	2 (4,2)	1:9,945 *1:9,9*

Zum Schluß möchte ich, ohne weiter auf das für mich hier abseits liegende Problem (vgl. auch MILOVIDOV 1949, 412) einzugehen, noch zwei Vergleichsquotienten nennen: Endothelkern 1:20 und Kern der äußeren Placentaschicht 1:60, die (mit allen oben gegebenen Einschränkungen) die starke Anreicherung der Nukleolarsubstanz in den weiblichen Sexualzellen beweisen.

d) Das Cytoplasma. Außer der großen chalazalen Vakuole befinden sich keine anderen Vakuolen mehr im Cytoplasma. Auf die späte Aus-

bildung der großen Vakuole sei an dieser Stelle noch einmal hingewiesen. Die Vakuole tritt erst nach der zelligen Differenzierung des 8kernigen Embryosackes auf.

Plastiden und Chondriosomen wurden nur in die entscheidenden Fig. 4, 5a und b der Abb. 1 eingezeichnet (Plastiden grau, Chondriosomen schwarz). Die genannten Figuren geben einen Begriff von Form, Größe und Verteilung der Chondriosomen. Meist werden Mitochondrien, zuweilen auch Chondriokonten beobachtet.

Zu der schwierigen Frage der Kontinuität der Plastiden möchte ich besonders im Hinblick auf die Arbeit von Louis (1931) bemerken, daß sich zwar Chondriosomen und Plastiden während der ganzen Embryosackentwicklung gesondert nachweisen lassen, wie auch Constantinescu (1943) betont, und auch im Embryosack deutlich zu unterscheiden sind (vgl. Abb. 1 Fig. 4, 5a und b). Nach meinen Beobachtungen liegt aber kein Grund vor, eine Differenzierung des Chondrioms in Plastiden und inaktive Chondriosomen in der meiotischen Prophase anzunehmen, wie es Constantinescu will. Meine Untersuchungen decken sich also mit den Befunden K. Noacks (1921) an *Impatiens parviflora*, ohne daß ich aus meinen bisherigen Beobachtungen den bündigen Schluß für die Kontinuität der Plastiden entnehmen will. Der gleichzeitige Nachweis beider Zellelemente nebeneinander beweist ja nicht schon deren Sonderdasein, sondern könnte auch als Beweis der dauernden Umwandlung einer Form in die andere gelten.

Nach den Beobachtungen Andersons (1936) bei *Antirrhinum majus, Philadelphus coronarius* und *Hyacinthus orientalis,* bei denen ebenfalls der Embryosack berücksichtigt wird, scheint der Übergang der Chondriosomen in Proplastiden gesichert. Die Arbeit von Kaienburg (1950) hat gezeigt, daß die Plastidengröße schwanken kann, so daß die kleinsten Plastiden etwa Chondriosomengröße aufweisen. Mir scheint von Wichtigkeit zu betonen, daß stets beide Zellelemente Chondriosomen und Plastiden gesondert und ohne Übergangsformen zu beobachten sind.

Die Viskosität und Quellbarkeit des Cytoplasmas ändern sich augenscheinlich während des Wachstums des Embryosackes, denn in erwachsenen, also befruchtungsbereiten oder bereits befruchteten und mehr noch in unbefruchtet bleibenden Embryosäcken macht sich die Tendenz bemerkbar, Plasmateile abzukugeln und in die Vakuole auszustoßen.

Die Erscheinung steht nicht isoliert da, denn während der Endospermentwicklung sieht man sehr häufig ein- bis mehrkernige Plasmaballen, die sich aus dem Plasma gelöst haben und jetzt frei im Zellsaft der großen Embryosackvakuole schwimmen. Dahlgren bildet für *Impatiens glanduligera* (1934, Fig. 28c) einen derartigen Zustand ab und gibt in seinen Fig. 28a, b und d Stadien, aus denen man die Entwicklung dieser „Plasmabälle" ersehen kann. Daß die Aussonderung derartiger Plasmabälle eine auch schon an anderen Objekten beobachtete Tatsache ist, geht aus den Literaturangaben Dahlgrens hervor. Daß sie auch noch bei anderen Balsamineen vorkommt, beweisen meine Beobachtungen an *Impatiens Mathildae.*

Für *Impatiens glanduligera* kann ich die Beobachtungen DAHLGRENs nur bestätigen und ihre Häufigkeit betonen. So wundert es mich nicht, daß auch im Embryosackplasma kurz vor oder nach der Befruchtung ähnliche „vesiculae" in den Vakuolenraum hineinragen (Abb. 2, Fig. 8) und diese schließlich abgeschnürt (Abb. 2, Fig. 9) und in den Vakuolenraum ausgestoßen werden. Die Bildung solcher „Plasmabälle" ist also augenscheinlich nicht vom Besitz eines oder mehrerer Kerne abhängig, sondern in den Zustandsänderungen des Cytoplasmas begründet. Man könnte im Hinblick auf die meist gleichzeitig erfolgende starke Quellung des Kernes lokale Viskositäts- oder Quellbarkeitsänderungen dafür verantwortlich machen, ohne damit allerdings diese Beobachtung zu erklären. Die abgestoßenen „Plasmabälle" zeigen meist in ihrer Mitte eine Vakuole oder zum mindesten ein weniger dichtes Cytoplasma (Abb. 2, Fig. 9), was auf beginnende Entmischung der Plasmakolloide deutet.

2. Cytologie des Eiapparates.

Das erste noch immer ungeklärte Problem im 8kernigen Embryosack ist die Membranbildung bei den Zellen des Eiapparates. Die wenigen darüber in der Literatur zu findenden Angaben sind widersprechend. Augenscheinlich geht die Wandbildung so schnell vor sich, daß Zwischenstadien sehr selten beobachtet werden. Noch offen scheinen mir folgende Fragen zu sein: 1. Erfolgt die Membranbildung auf dem Wege der freien Zellbildung oder durch Wände, die an der Embryosackwandung ansetzen? 2. Erfolgt die Bildung simultan oder sukzedan? 3. Mit Hilfe eines Phragmoplasten oder ohne eine solche? Bei der Schwierigkeit des Objektes findet man diese Fragen nicht eindeutig gelöst, und es erscheint nach den bisherigen Befunden [vgl. SCHNARF 1929, 125 ff. und 1941b, 170 (dort weitere Literatur), TISCHLER 1934, 389, SMITH 1942, 659 und 661 und COOPER 1935, 1937 und 1939] durchaus fraglich, ob eine allgemein gültige Beantwortung dieser Fragen zu erzielen ist. Ich selber kann auf Grund meiner Studien an *Impatiens glanduligera, parviflora* und *Mathildae* trotz eines Untersuchungsmaterials von 5000 Samenanlagen nur die beiden ersten Fragen und diese auch nur für den Rahmen der Balsamineen beantworten. Vor Verallgemeinerungen müssen wir uns bei dem geringen Stand unseres Wissens hüten.

Ein Vergleich der Fig. 2 und 3 der Abb. 1 zeigt eindeutig, daß die Zellbildung sukzedan erfolgt, und löst somit die zweite Frage. Aus der Fig. 2 geht ferner hervor, daß die Membran, die die beiden Synergiden vom mittleren 4kernigen Raum trennt, beidseitig an die Makrosporenwand ansetzt. Auf die Beobachtung dieser Tatsache habe ich besonderen Wert gelegt und keine Ausnahme gefunden. Somit entstehen zum mindesten die beiden Synergiden nicht durch freie Zellbildung. Ob die Eizelle durch freie Zellbildung entsteht oder nach demselben Modus wie die beiden

Synergiden, vermag ich nach meinen Befunden nicht zu sagen. Das sichere Kriterium, das Ansetzen der Eizellmembran an die Makrosporenwand, konnte ich nicht nachweisen (Abb. 1, Fig. 3). Fixierungseinflüsse können ein frühzeitiges Lösen des Eiapparates von der Makrosporenwand begünstigen, so sind diese auch sicherlich bei den Fig. 2 und 3 für das Loslösen der Zellen von der Makrosporenwand mitbestimmend gewesen, jedoch sicher nicht allein maßgebend, wie weitere Befunde ergaben. Ein Wachstum der Zellen des Eiapparates und eine Differenzierung zur Endform, wie sie die Fig. 4, 5a und b der Abb. 1 zeigen, wären ohne eine zum mindesten lokale Loslösung von der Embryosackwand nicht möglich. Auffällig ist, daß die totale Lösung von der Embryosackwand in dem frühen Entwicklungszustand der Fig. 3 unter dem Einfluß der Fixierung so leicht erfolgt, während doch sonst die Festigkeit der Anheftung an die Makrosporenwand, wie die Zentrifugierversuche von ANDREWS (1915 und 1927) bewiesen haben, außerordentlich groß ist.

a) Die Synergiden. Die Fig. 2 und 3 der Abb. 1 beweisen, daß die von der Embryosackwandung total gelösten Zellen des Eiapparates eine Eigenmembran haben, eine Tatsache, die angesichts der vielen in der Literatur beschriebenen gegenteiligen Befunde (vgl. z. B. SCHNARF 1929, 134 und 1941 b, 170) besonders hervorgehoben werden muß. Diese Eigenmembran muß nun als Sekundärmembran in den Synergiden gebildet und auf die erste den Embryosack durchsetzende Wand aufgelagert worden sein. Die Frage, ob die Synergiden sich im Laufe ihrer Entwicklung von der Makrosporenwand an ihrem unteren Teil [im Interesse einer einheitlichen Nomenklatur wäre es durchaus erwünscht, daß man sich den Definitionen von SOUÈGES (1936) allgemein anschließt, der die Eizelle wie den gesamten Eiapparat so zu orientieren wünscht, daß Übereinstimmung mit der aus dem Embryo entwickelten Pflanze besteht] gänzlich lösen, ist von sekundärer Bedeutung, da ja im Laufe der Entwicklung sowieso die Makrosporenwand über der Synergidenkappe aufgelöst wird. Die große Haftfähigkeit läßt sich also in keinem Fall durch besonders feste Insertion an der Makrosporenwand erklären.

Das Wachstum der Synergiden erfolgt in zwei deutlich abgegrenzten Phasen, wobei die Fig. 4 das Endstadium der ersten und die Fig. 5a und b der Abb. 1 das Endstadium der zweiten Phase darstellen. In der ersten Phase liegt das Hauptwachstum der Synergiden, die Differenzierung zur typischen Synergidenform durch Ausbildung der apikalen Vakuole und Anlage der Synergidenkappe. Die zweite Phase ist charakterisiert durch die weitere Ausbildung der Synergidenkappe verbunden mit einem interkalaren Wachstum und durch die Umwandlung des Kernes.

Als erstes Problem taucht die Frage nach der Zellwandbeschaffenheit auf. Reaktionen mit Chlorzinkjod, Kupferoxydammoniak und Färbung mit Kongorot lassen auf Zellulose schließen. Pektinreaktion mit

Rutheniumrot blieb negativ. Bei der Dünnheit der Membranen ist es schwer den Ausfall der Reaktion zu entscheiden, doch ergab sich nach langer Prüfung in beiden Entwicklungsphasen das gleiche Bild: die Membran ist über die ganze Zellfläche einheitlich, auch die Synergidenkappe zeigt Zellulosereaktion.

Das Wachstum der Synergiden erfolgt in der ersten Phase ihrer Entwicklung über die ganze Fläche, wobei sehr bald die apikale Vakuole entsteht. Diese behält ihre Lage bei und vergrößert sich nur im Laufe der Entwicklung. Auch am mikropylaren Ende der bereits herangewachsenen Synergide beginnt sich ein Vakuolensystem zu bilden, das in seiner vollen Ausbildung, wie es die Fig. 4 der Abb. 1 zeigt, die apikale Vakuole an Größe übertrifft. Dieses mikropylare Vakuolensystem besteht meist aus mehreren Vakuolen. Es wurde in 80% aller beobachteten Fälle gesehen, so daß man wohl von einem regelmäßigen Auftreten sprechen kann. Es sei an dieser Stelle auf eine ähnliche Abbildung bei OTTLEY (1918, Tafel XIV, Abb. 16) verwiesen, der bei *Impatiens Sultani* ebenfalls das Auftreten zweier Vakuolen gesehen hat. Eine Kernwanderung während der Synergidenentwicklung, wie OTTLEY (1918, 294) sie beschreibt, konnte ich bei *Impatiens glanduligera* nicht beobachten. Der Kern selber beginnt sich während der Synergidenentwicklung zu strecken, so daß er eine ellipsoide Form am Ende der ersten Phase aufweist, wie sie die Fig. 4 zeigt. Die Kernstruktur könnte als prophasisch bezeichnet werden. Die typischen Balsamineenchromocentren haben sich bereits zu mehr oder minder langen Chromatinfäden gestreckt, wie es z. B. auch SCHAEDE (1935, 471) für die Prophasen von *Impatiens Balsamina* beschreibt. Der Kern reagiert während der ganzen Entwicklung, auch nach Abschluß der zweiten Entwicklungsphase nukleal. Der Kern enthält in diesem Stadium 1—2 Nukleolen.

Am Ende der ersten Entwicklungsphase kann die Anlage der Synergidenkappe beobachtet werden. Die Synergidenkappe wird also bereits zu einer Zeit angelegt, in der von einer pathologischen oder Altersveränderung des Kernes keine Rede sein kann. Die Synergidenkappe erscheint als ein von einem dunkler sich anfärbenden wabigen Netzsystem durchzogenes Gebilde. Die Netzstruktur setzt sich als dunkler Körnchensaum in das Cytoplasma fort, wie es z. B. die Fig. 4 der Abb. 1 zeigt. Die wabige Struktur in der sonst homogen erscheinenden Synergidenkappe ist nur bei guter Optik zu beobachten.

Ich bin zu der Überzeugung gekommen, daß die Unterscheidung in „Fadenapparat" und „Synergidenkappe", wie man sie in der Literatur noch zuweilen findet, recht problematisch ist. Je nach der Güte der verwandten Optik und dem angewandten Färbeverfahren [die beste Färbung erzielte ich in Übereinstimmung mit HABERMANN (1906), ISHIKAWA (1918), JOHANSEN (1929) und WEST (1930) mit Gentianaviolett] erscheinen die Synergidenkappen mehr oder minder homogen. Zieht man nun in Betracht, daß der Ausdruck: „Synergidenkappe" im Jahre 1878

von STRASBURGER für eine streifenfreie Zelluloseanhäufung am mikropylaren Ende der Synergiden eingeführt wurde, so könnte man wohl zu dem Schluß kommen, daß bei der damaligen Optik und den Präparationsverfahren die Feinstruktur eines Streifen- oder Wabensystems übersehen wurde (vgl. dazu auch HABERMANN 1906, 304). Zum mindesten ist, wie auch SVENSSON (1925) sagt, kein deutlicher Unterschied zwischen „Synergidenkappe" und „Fadenapparat" zu machen, zumal beide gleich entstanden sind. Sicher ist, daß die Streifung des Fadenapparates bei den einzelnen Pflanzen ganz verschieden entwickelt ist, z. B. beschreibt STENAR (1925) streifenfreie Zellulosekappen. Es wäre also gut den neutraleren, wenn auch jüngeren Ausdruck „Synergidenkappe" zu verwenden (der Ausdruck „Fadenapparat" stammt von SCHACHT (1858), da sich aber der Ausdruck: „Fadenapparat" bereits so eingebürgert hat, besteht wenig Aussicht auf eine Änderung in diesem Sinne.

In der zweiten Phase der Entwicklung nimmt die Synergide die Form an, die uns berechtigt sie zum dritten Typ, zum Typ der langen Synergiden nach SCHNARF (1941b, 168/169) zu zählen. Das Wachstum in der zweiten Phase erfolgt hauptsächlich interkalar. Die Wachstumszone befindet sich oberhalb der jungen Synergidenkappe. Sie ist meist durch dichteres und dunkler färbbares Plasma kenntlich [vgl. auch die Beobachtung von SMITH (1942, 661) bei *Camassia*]. Der obere freie Teil der Synergiden wird in diesem Stadium, wie ein Vergleich der Fig. 4 und 5a und b der Abb. 1 zeigt, nur unwesentlich vergrößert, während die Synergidenkappe selbst eine starke Vergrößerung erfährt. Die Makrosporenwand, die übrigens immer gut polarisations-optisch und bei Hämatoxylinfärbung nach DELAFIELD nachweisbar ist, wird durch die sich vergrößernde Synergidenkappe zunächst in die Mikropyle vorgebeult (Abb. 1, Fig. 4) und dann unterhalb der Synergidenkappe aufgelöst. Die Synergiden wachsen nun mit ihrer Synergidenkappe in die Mikropyle ein, die sie fest verschließen. Auf Fig. 5a haben sich die Synergiden unter der Einwirkung der Fixierung kontrahiert und füllen die Mikropyle mit ihrer Synergidenkappe nicht mehr ganz aus. Jedoch ist an der Begrenzung des Embryosackcytoplasmas deutlich, daß an dieser Grenzlinie ein fester Abschluß vorhanden war, der das Cytoplasma hinderte, weiter in die Mikropyle einzudringen.

Die Form der erwachsenen Synergiden paßt sich in geringem Maße der Embryosackwandung an. Leisten- oder hakenförmige Vorsprünge, wie sie DAHLGREN (1928 und 1938) und FAGERLIND (1943) zusammenfassend beschrieben haben und wie sie seitdem häufig beobachtet wurden, konnte ich, von geringfügigen Ausbuchtungen abgesehen, nicht feststellen. Wie der Vergleich der Fig. 4 und 5a der Abb. 1 zeigt, ist der Übergang von der schwach konkaven (Nomenklatur nach FAGERLIND 1943 auf das Embryosacklumen bezogen) zur planen bis schwach konvexen Synergidenmembran äußerst gering. Es wäre mithin nach Auffassung FAGERLINDS auch nur eine schwache Leisten- oder Hakenbildung eventuell nur im Übergangsstadium zu erwarten. Bestätigen kann ich die Auffassung FAGERLINDS, daß der zentrale Membrananteil dehnbarer ist als die peripheren Kappen. Diese Tatsache führt ja zu dem schon vorhin beschriebenen interkalaren Wachstum.

Allen erwachsenen Synergiden ist eine ringförmige Einschnürung oberhalb der Synergidenkappe eigen (Abb. 1, Fig. 5a). Diese ringförmige

Einschnürung stellt aber nicht die Grenze zwischen Synergidenkappe und Cytoplasma dar, sondern es befindet sich noch stets Cytoplasma unterhalb dieser Ringfurche. An dieser Stelle kommt es häufig vielleicht unter dem Druck der Embryosackvakuole (vgl. FAGERLIND 1943) zu einer Verknickung der Synergiden, die so oft beobachtet wurde, daß sie nicht als Artefakt zu deuten ist.

Bei dieser Verknickung wird also der obere Teil der Synergide zum unteren in einem stumpfen Winkel abgebogen. Diese Tatsache ist wichtig für die richtige Deutung der Mikrotomschnitte. Da die Knickung in den beiden Synergiden nicht gleichsinnig zu sein braucht, kann es vorkommen, daß durch einen Mikrotomschnitt die eine der Synergiden in zwei anscheinend voneinander unabhängige Teile zerlegt wird. Da nun auch die Synergidenkappen bei den Balsamineen nicht besonders auffällig ausgebildet sind, ist es verständlich, daß sie, wie es die vorstehende Tatsache begünstigt, übersehen wurden. So erwähnt OTTLEY trotz seiner genauen Angaben über die Synergiden, insbesondere über die Verlagerung ihrer Kerne (1918, 294), die Synergidenkappen bei *Impatiens Sultani* nicht. Erst bei der Beschreibung des Pollenschlauches und seines Weges zur Eizelle sagt er, daß der Pollenschlauch in den Embryosack eintrete: "at one side of the filiform apparatus" (1918, 305). Auch SCHÜRHOFF (1931) erwähnt bei seinen Studien an *Impatiens parviflora* und *Hydrocera triflora* den Fadenapparat nicht, erst in der Erklärung der Tafeln (1931, 335) spricht er im Text zu Abb. 5 der Tafel XVI von einem Fadenapparat, bildet aber auch nichts weiter als zwei Striche in dem unteren Teil der Synergide ab, die zudem in dem zugehörigen Mikrophotogramm Tafel XIV, Abb. 15, fehlen.

Die Synergidenkappe wird stets nur am basalen Ende der Synergiden ausgebildet und nicht auch oder besonders an der Berührungsfläche der beiden Synergiden, wie zuweilen in der Literatur beschrieben. Die Form der Synergidenkappe ist augenscheinlich von der Öffnungsweite der Mikropyle bedingt, so daß auch sehr stark zugespitzte Synergidenkappen beobachtet wurden. Auch im voll ausgebildeten Zustand ist über die Struktur der Synergidenkappe nichts anderes zu sagen als was bereits in der ersten Wachstumsphase der Synergiden deutlich wurde: die Synergidenkappe entsteht als kompakte Masse (Abb. 1, Fig. 4 und 5a, Abb. 2, Fig. 1f—h) aus dem Cytoplasma und wird während der Entwicklung und des Wachstums der Synergide fortlaufend vermehrt. Bei guter Optik ist in ihr eine Feinstruktur in Form eines wabigen Liniensystems zu erkennen, dessen Maschen in der Längsrichtung der Synergide etwas stärker gestreckt sind, so daß ein oberflächlicher Betrachter in ihnen wohl ein Streifensystem erblicken könnte. Ein Röhrensystem, wie es z. B. WEST (1930, Tafel XII, Abb. 24) abbildet, oder ein Streifensystem, wie es z. B. SCHÜRHOFF zu einem Vergleich mit einem spitzen Pinsel veranlaßte (1915, 511), konnte ich nicht beobachten, ebensowenig eine Porenbildung in der Synergidenkappe. Die Netzstruktur erstreckte sich über die ganze Synergidenkappe und ließ nicht, wie so oft in der Literatur beschrieben, die Spitze der Kappe frei. Jedoch nahm die Färbbarkeit gegen die Spitze zu ab.

Die Feinstruktur ist keine Oberflächenstruktur, sondern durchsetzt die ganze Synergidenkappe, wie die Querschnittsbilder 1f—h der Abb. 2 beweisen. Diese Feinstruktur setzt sich in das Cytoplasma der Synergiden fort, wie Präparate mit Eisenhämatoxylinfärbung ergaben. Ich schließe aus diesen Befunden, daß die cytoplasmatischen Fäden, die sich tief in die Synergidenkappe erstrecken und ihr das wabige Aussehen verleihen, fortschreitend und allmählich eine Umwandlung erfahren und dann je nach dem Alter und der Färbung des Objektes verschieden gut als Feinstruktur sichtbar sind. Auch Brink und Cooper (1940) halten die Wabenstruktur für Cytoplasmastränge. Die Fortsätze dieser Feinstruktur in das Cytoplasma der Synergiden als Fixierungsartefakte oder Degenerationserscheinungen zu deuten, wie es West tut, halte ich nicht für berechtigt. Ich schließe mich mit meiner Deutung Habermann (1906) an. Meine Ansicht wird noch besonders gestützt durch die immer wieder beobachtete Tatsache, daß das Cytoplasma an der Synergidenwandung unverändert färbbar tief in die Synergidenkappe hineinragt (Abb. 1, Fig. 4 und 5a und Abb. 2, Fig. 1f—h).

Über die Bildungsweise der wahrscheinlich aus Zellulose bestehenden Substanz der Synergidenkappe kann ich trotz aller Bemühungen nichts aussagen. Die Balsamineen sind für derartige Studien nicht geeignet. Bis ein für solche Studien geeignetes Objekt gefunden wird, darf man mit Habermann summarisch annehmen, daß die Substanz der Synergidenkappe durch Umwandlung aus dem Cytoplasma entsteht. West führt die Betrachtungen Habermanns noch einen Schritt weiter und schließt, wie schon oben gesagt, daß die Substanz des Fadenapparates vakuolären Ursprungs sei (1930, 100). Dieser Meinung schließt sich neuerdings auch Smith (1942, 661) an.

Im Cytoplasma lassen sich bei geeigneter Fixierung Chondriosomen in Form von Mitochondrien und seltener Chondriokonten in geringer Anzahl nachweisen. Plastiden sind vorhanden und von Chondriosomen unterscheidbar (Abb. 1, Fig. 4 und 5a).

Neben der Ausbildung der Synergidenkappe ist die Veränderung des Kernes der interessanteste Teil in der Entwicklung der Synergiden. Die Kerne beginnen sich zu strecken und eine mehr und mehr ellipsoide Form anzunehmen, wie es bereits am Ende der ersten Phase (Abb. 1, Fig. 4) deutlich wurde. Die Kerne befinden sich zur Zeit der Streckung in einem Prophase-ähnlichen Stadium, wie ein Vergleich mit einem typischen Chromocentrenkern des Endothels (Fig. 1 und 4 der Abb. 1. Fig. 1b der Abb. 2) ergibt. Die Kerne verjüngen sich gegen das mikropylare Ende der Synergiden und passen sich so der Synergidenform an (Abb. 1, Fig. 5a). Das verjüngte Ende, das dabei häufig eine Torsion um 180° erfährt, kann außerordentlich schmal und zugespitzt sein, so daß der Kern geschweift erscheint.

Der Veränderung der Kernform parallel läuft eine Änderung des Chromatins. Die prophasischen Fäden beginnen sich unter Dickerwerden (vgl. Abb. 1, Fig. 4 und 5a) zu strecken, so daß oft der Eindruck eines einheitlichen Fadensystems entsteht, wie es besonders in der linken Synergide der Fig. 5a der Abb. 1 zutage tritt. Gleichzeitig mit der Streckung der Chromatinfäden erfolgt eine auffällige Änderung der Oberfläche. Die Fäden bekommen ein feinzackiges Aussehen durch kleine Körnchen, die sich von dem Fadensystem zu lösen beginnen. Besonders deutlich ist diese Änderung jedoch an bestimmten Teilen des Chromatinfadens, wo nicht nur die Oberfläche des Fadens ein körniges Aussehen bekommt, sondern der ganze Faden in lauter Einzeltröpfchen zerstäubt wird (Abb. 1, Fig. 5a und Abb. 2, Fig. 1e), die stets eindeutig die Feulgen-Reaktion geben.

Wollte man einen Vergleich mit den HEITZschen Zerstäubungsstadien (1933) ziehen, so wäre zu bedenken, daß HEITZ die Zerstäubungsstadien vor Ausbildung der Prophase-Chromosomen annimmt.

Nach diesen Befunden könnte man schließlich zu der Frage kommen, ob die beobachteten Veränderungen des Chromatins in eines der pathologischen Kernbilder, wie sie z. B. von TISCHLER (1934, 438 ff.) und MILOVIDOV (1949, 171) referierend beschrieben sind, einzufügen sind. Man könnte in diesem Sinne an frühe karyorrhektische oder chromatolytische Zustände denken, doch wurde nie eine Ausstoßung der Chromatintröpfchen in das Cytoplasma oder eine abnehmende Nuklealreaktion beobachtet. Da die Kernstrukturen sich in normal funktionierenden Synergiden, wie sich aus Bildern bei Eindringen des Pollenschlauches ergibt, befinden und diese Strukturen auch in alternden, unbefruchtet bleibenden Embryosäcken nicht geändert werden, darf man wohl in der Kernstruktur eine besondere Ausgestaltung des Arbeitskernes sehen.

In Präparaten mit Eisenhämatoxylinfärbung nach HEIDENHAIN lassen sich im Endzustand Chromatinfäden und Nukleolen nicht sicher voneinander trennen. Wie aber Vergleichspräparate mit der Nuklealreaktion und mit Fuchsin-Jodgrün ergaben, wird die Zahl der Nukleolen gegenüber der ersten Phase nicht vermehrt.

Zum Schluß sei noch einmal betont, daß der Synergidenkern zu allen Zeiten eine eindeutige Nuklealreaktion gibt, auch noch nach Eindringen des Pollenschlauches in die Synergide. Die gegenteiligen Angaben SVESHNIKOVAS (1941) für die Synergiden der Vicieae-Gruppe bedürfen der Nachprüfung.

Die beiden Synergiden sind untereinander formgleich, eizellähnliche Synergiden, wie sie z. B. JOSHI (1939) bei *Tinospora* beschreibt und zusammenfassend referiert, konnte ich nicht beobachten. Ich habe auch keinen Grund eine physiologische Verschiedenheit der beiden Synergiden, wie WEST (1930) es tut, anzunehmen.

b) Die Eizelle. Das Wachstum der Eizelle erfolgt über die ganze Membran gleichmäßig, es ist nicht wie das Wachstum der Synergiden in zwei differente Phasen gegliedert. Das Wachstum der Eizelle bis zur

Befruchtungsreife (Abb. 1, Fig. 5b) ist erheblich stärker als das der befruchteten Eizelle bis zur ersten Teilung des Pro-Embryos, wie ich bereits an anderer Stelle (STEFFEN 1944) dargetan habe.

Die auffälligsten Veränderungen während des Wachstums sind: 1. die Kernverlagerung an den Scheitel der Eizelle und 2. die Entstehung der großen basalen Vakuole.

Beide bedingen die morphologische Heteropolarität der Eizelle. Die Kernverlagerung erfolgt wahrscheinlich passiv durch sich ändernde Oberflächenspannungsverhältnisse (STEFFEN 1946). Über die Entstehung des Vakuoms läßt sich wenig Neues sagen, da der Embryosack der Lebendbetrachtung und Vitalfärbung nicht zugängig ist. Die Vakuombildung beschränkt sich zumeist auf die große basale Vakuole. Jedoch ist auch diese nicht immer ausgebildet; in 5% aller beobachteten Fälle fehlte sie in der befruchtungsreifen Eizelle.

Die Grundform der fertig ausgebildeten Eizelle ist, wie die Fig. 5b der Abb. 1 zeigt, birnförmig (Typ III nach SOUÈGES 1935). Sie ist jedoch nicht radiärsymmetrisch. Ihr unteres Ende gleicht einem schief aufgesetzten Kegelstumpf (STEFFEN 1946), der je nach der Größe der an die Embryosackwand grenzenden Fläche eine mehr oder minder große Abplattung zeigt. Abwandlungen von dieser Grundform werden augenscheinlich durch die Lageverhältnisse im Embryosack und durch die Lage der Synergiden zur Eizelle hervorgerufen. Sehr häufig findet man das Negativ der Synergiden in der Eizelle abgedrückt. Diese geringfügigen Änderungen vermögen jedoch nur die Grundform zu modifizieren.

Die Fig. 5b der Abb. 1 möchte den Beschauer dazu verleiten, in der geringen seitlichen Ausbuchtung der Eizelle eine Haken- oder Leistenbildung im Sinne DAHLGRENS (1928 und 1938) und FAGERLINDS (1943) zu sehen, jedoch ist dieser Schluß nicht berechtigt, da es sich lediglich um ein Fixierungsartefakt handelt. Die Eizelle hat sich bei der Fixierung von ihrer linken seitlichen Anheftungsstelle gelöst.

Die Eizellmembran ergibt über ihre ganze Fläche mit den gewöhnlichen Zellulosereagentien (MOLISCH 1923) keine positive Reaktion. Ich möchte an dieser Stelle noch einmal besonders auf die Schwierigkeit hinweisen an dünnen Membranen die Jodreaktion zu beobachten, wie es z. B. auch ZIEGENSPECK (1941, 237) betont. Meines Erachtens gehen manche unsichere Angaben über die Reaktion der Membranen des Eiapparates auf diese Schwierigkeit zurück. Sicherlich sind die in der Literatur gegebenen Befunde von sehr unterschiedlichem Wert.

Der kugelige Kern liegt am apikalen Ende der Eizelle, der Membran bis auf 1 μ genähert oder ihr recht oft sogar fest anliegend. Eine Beziehung zwischen Lage des Zellkernes und Wachstum der Eizelle im Sinne HABERLANDTs (1928) besteht nicht (STEFFEN 1946). Der Zellkern

erreicht eine Durchschnittsgröße von 12 μ Durchmesser und enthält als Primärzahl je einen großen (etwa 5 μ) und einen kleinen (1 μ) Nukleolus. Der große Nukleolus weist häufig eine zentral gelegene Vakuole auf. Sekundär kann ein zweiter kleiner Nukleolus gebildet werden, so daß die Nukleolenzahl nicht für den Nachweis der Befruchtung herangezogen werden kann.

Die Änderung der Eikernstruktur erfolgt wie bei den Polkernen in zwei Phasen: der Kernwachstumsphase und dem Nuklealitätswechsel.

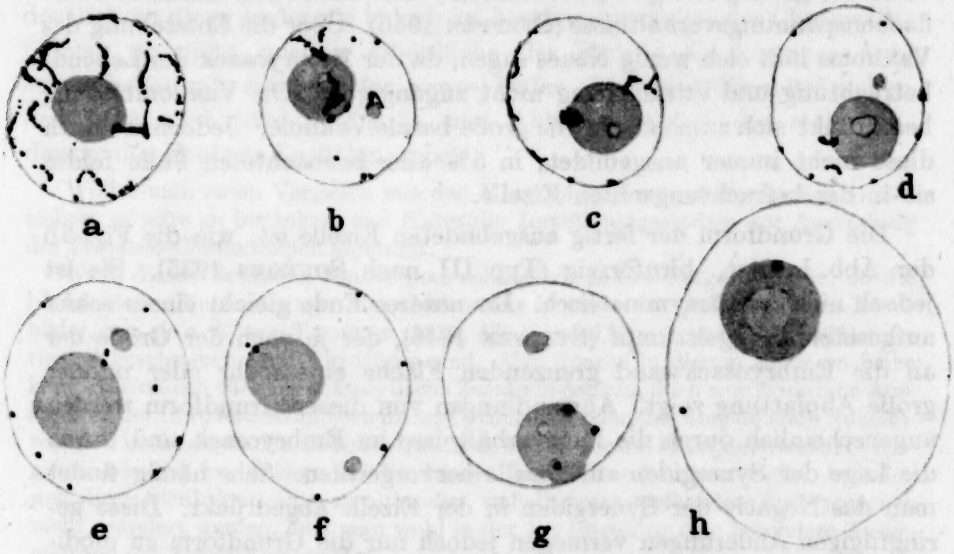


Abb. 3 a—h. *Impatiens glanduligera*. Reifung des Eikernes. Die Eikerne sind gleichsinnig orientiert (obere Seite = mikropylare Seite). FEULGENsche Nuklealreaktion. Vergrößerung 2100fach. a letztes Stadium der Kernwachstumsphase: Streckung der Chromatinfäden und Auftreten von Chromomeren; b—h Nuklealitätswechsel; e Stadium der 9 Restchromomeren; g typischer befruchtungsreifer Kern mit Restnuklealität; h hypertrophierter Kern. Weitere Erklärungen im Text.

Der einzige Unterschied besteht darin, daß die Polkerne ihre Nuklealität vollends verlieren.

In der ersten Phase geht der typische Chromocentrenkern (Abb. 1, Fig. 4) unter Größenzunahme in ein Prophase-ähnliches Stadium über, wobei sich in der bekannten Weise die Chromocentren als die Winkelpunkte zeigen, an die sich die Schenkel der Chromosomen ansetzen. Unter weiterer Größenzunahme erfolgt, durchaus im Sinne von SCHNARF (1941 b), eine Streckung der Prophase-Chromosomen, wobei die Gesamtchromatizität sinkt (Abb. 3 c) und Chromomerenstruktur auftritt. Die Abb 3 a gibt ein gutes Bild für diese Umwandlungen, da die Chromosomen nicht gleichzeitig diese Stadien durchlaufen und diese somit nebeneinander sichtbar sind. Diese Streckung ergreift auch die Winkelpunkte, so daß die dort auftretenden Chromomeren wesentlich kleiner sind als die ursprünglichen Chromocentren (Abb. 3 d—h und b). Diese Bemerkung

ist von Bedeutung, da in der zweiten Phase die Chromomeren an den Schenkeln beginnend bis auf eines im oder nahe dem Winkelpunkt gelegen es verblassen (Abb. 3d—h). Die dem großen Nukleolus anliegenden erweisen sich als doppelt (Abb. 3e und f), so daß der Verdacht besteht, daß in diesem Fall die beiden wahrscheinlich als Zentromer-Chromomeren (Lima-De-Faria 1949a und b und 1950) anzusprechenden Chromomeren nukleal geblieben sind. Im übrigen erscheint in den Stadien, wo die dem Nukleolus anliegenden Doppelchromomeren nicht gesondert sichtbar sind, das eine ihm anliegende Chromomer größer (Abb. 3g und h), woraus man auf Superposition der Chromomeren schließen könnte. Diesen Verdacht muß man grundsätzlich auch bei den anderen nukleal bleibenden Chromomeren haben; die letzte Arbeit von Lima-De-Faria (1950) hat gezeigt, daß die mit der K-E-Methode zu trennenden Zentromer-Chromomeren bei Anwendung der Feulgen-Reaktion oft nicht mehr isoliert darstellbar sind.

Der Kern erscheint also nunmehr erneut wie ein Chromocentrenkern mit dem Unterschied, daß die nukleal gebliebenen Chromatinkörnchen wesentlich kleiner (etwa 0,5—0,75 μ im Durchmesser) als die eigentlichen Chromocentren sind (vgl. die Chromocentren in Abb. 3a). Die 9 Chromosomen von *Impatiens glanduligera* zeigen also ihre Lage in der Eizelle durch die kleinen nuklealen Rest-Chromomeren an (Abb. 3e). Eine gesetzmäßige Lagerung konnte trotz aller Bemühungen nicht festgestellt werden (die Abb. 3 ist so orientiert, daß bei allen Kernen die obere Seite der Mikropyle zugewandt ist). Gesichert ist allein, daß ein Chromomerenpaar dem großen Nukleolus anliegt.

In diesem Zustand der nuklealen Rest-Chromomeren verharrt das Ei einige Zeit, wie aus der Häufigkeit solcher Stadien hervorgeht (Abb. 3e), dann verlieren auch diese Chromomeren ihre Nuklealität (vgl. das Stadium Abb. 3f mit 5 nuklealen Chromomeren als Übergangsstadium), nur das dem Nukleolus anliegende und ein weiteres behalten ihre Nuklealität bis in das Stadium der Befruchtung hinein. Im Normalfall ist die Eizelle also, wenn sie befruchtungsreif ist, oligonukleal. Wie die Veränderung des nuklealen Chromatins vor sich geht, kann nicht gesagt werden. Ein durch diffuse Färbung gekennzeichnetes Auftreten von Thymonukleinsäure im Zellsaft (also „Zerstäubung" in submikroskopische Teilchen im Sinne Milovidovs (1949, 488) wurde nicht beobachtet.

Der Nuklealitätswechsel erfolgt also in zwei Schnitten, wie die Abb. 3 beweist (1. Stadium obere Reihe: a—e; 2. Stadium untere Reihe: e—h), ohne Kernvergrößerung, kann also keineswegs durch die von Milovidov (1936 und auch noch 1949, 462 und 467) vertretene Dispersionstheorie, der auch Schnarf (1941b) in seiner Kritik der Arbeiten von Pavulans (1940) und Shimamura (1935a und b) zustimmt, erklärt werden. Nur für die Streckung der Prophase-Chromosomen, die in Abb. 3a bereits begonnen hat, ist sie insofern gültig, als sie ohne Neuproduktion von Thymonukleinsäure die nukleal reagierenden Chromomeren auf

einen größeren Kernraum verteilt, wobei das Gesamtbild des Kernes geringer gefärbt erscheint. Wie die Abb. 3h eindeutig zeigt, bleibt auch bei starkem Kernwachstum die Restnuklealität von zwei Chromomeren erhalten. Nach MILOVIDOV und SCHNARF müßte in diesem hypertrophierten Kern die Nuklealität verschwunden sein. — Ein weiterer Gegenbeweis gegen die Dispersionstheorie ist die Tatsache, daß die extrem durch Wasseraufnahme gequollenen Haustorienkerne stets positive Reaktion zeigen.

Eine Diskussion der Fehlerquellen (vgl. auch die technischen Angaben auf S. 177) ist nicht nötig, da 1. die entwicklungsgeschichtliche Analyse eine schrittweise, genau zu verfolgende Abnahme an Thymonukleinsäure-Gehalt zeigt, die bei der Willkür technischer Fehler nicht möglich sein dürfte, 2. da die Nuklealitätsabnahme allein in den weiblichen Sexualkernen auftritt bei gleichbleibender Reaktion in allen anderen Kernen.

MILOVIDOVS Untersuchungen an *Asphodelus cerasiferus, Lilium bulbiferum* und *martagon* (1936, 588 ff.) beweisen nur, daß bis zum 4-Kern-Stadium des Embryosackes positive Reaktion zu beobachten ist, sie stützen damit meinen und PAVULANS' (1940) Befund, wonach erst im reifenden Embryosack der Nuklealitätswechsel erfolgt. Leider geht PAVULANS in seiner Arbeit über die Nuklealreaktion der Embryosäcke und Pollenkörner nicht näher auf die Reaktion der sekundären Embryosackkerne ein, doch muß man bei der vergleichenden Betrachtung seiner Abb. 1 und 2 zu der Ansicht kommen, daß er zum mindesten bei *Butomus umbellatus* dieselbe negative Reaktion des sekundären Embryosackkernes beobachtet hat wie ich. PAVULANS (1940, 23) spricht nur summarisch von den Kernen der reifen Embryosäcke, die bis auf die Antipoden eine negative Reaktion geben. Nach den Angaben TISCHLERS (1934, 68) hat Frl. v. BERG bei den Kernen der Embryosackmutterzellen und des Embryosackes von Liliifloren negative Feulgen-Reaktion erhalten, somit auch bei den sekundären Embryosackkernen. Hier muß ich mich übrigens der Kritik von MILOVIDOV (1936, 588) anschließen, der sagt, daß es nicht klar sei, welche Liliifloren und ob alle oder nur einige Embryosackkerne gemeint seien.

Neben PAVULANS, der an den reifen Eizellen von 11 Angiospermen negative Nuklealreaktion erhielt, berichtet SVESHNIKOVA (1941) über negativen Ausfall bei den Eizellen der *Vicieae*-Gruppe. WERCKMEISTER (1936) fand bei *Iris*-Bastarden Antipoden und Synergiden nukleal, Ei- und Polkerne jedoch anukleal. Hinweisend auf die vielen Angaben über Anuklealität tierischer Eikerne (zusammenfassende Literaturübersicht bei TISCHLER 1934, 68, SCHNARF 1941b, 172 und 203 und MILOVIDOV 1949, 460 ff.) möchte ich betonen, daß ein Übersehen geringer Restnuklealität leicht möglich ist (ich selber habe lange Zeit bei *Impatiens glanduligera* und *Mathildae* die beiden nuklealen Chromomeren des Eikernes von 0,5—0,75 μ Durchmesser übersehen). Nur genaue entwicklungsgeschichtliche Analyse kann den Tatbestand klären. — Zwischen Anuklealität und Oligonuklealität scheint mir nur ein gradueller Unterschied zu bestehen. Ich halte es für möglich, daß Eikerne anderer Objekte vollends anukleal sind. Wichtig scheint mir nur, daß die Nuklealitätsabnahme in diesem Maße allein in den weiblichen Sexualkernen erfolgt. — Wenn von Anuklealität gesprochen wird, muß stets die Erfassungsgrenze für Thymonukleinsäure durch die Feulgen-Reaktion (LESSLER 1948) berücksichtigt werden, d. h. bei negativer Reaktion kann die Thymonukleinsäure-Konzentration so gering sein, daß sie durch die Reaktion nicht mehr erfaßt wird; das hindert jedoch nicht innerhalb des Erfassungsbereiches die Nuklealreaktion quantitativ auszuwerten (RIS und MIRSKY 1949). Vergleichend möchte ich noch hinweisen auf die in letzter Zeit mit quantitativ-chemischen Methoden durchgeführten Analysen tierischer Eizellen, die deren geringen Thymonukleinsäure-Gehalt bestätigen.

Der Nachweis von Plastiden in der Eizelle ist immer, wenn auch oft mit einiger Mühe, zu führen. Stärke wird normalerweise in der unbefruchteten Eizelle und in den Synergiden nicht gebildet, jedoch konnte ich beim Ausbleiben der Befruchtung in einigen Fällen ausnahmsweise das Auftreten von Stärkekörnern in der Eizelle beobachten, ebenso bei KAIENBURG berichtet.

Die Chondriosomen ließen sich schon durch ihre geringere Größe leicht von den Plastiden unterscheiden, wie es auch K. L. NOACK (1921) betont. Sie kommen meist in Form von Mitochondrien und Chondriokonten vor (Abb. 1, Fig. 4 und 5b). Meine Beobachtungen decken sich mit denen von K. L. NOACK (1921) an *Impatiens parviflora*. Leider gibt er in seiner Arbeit keine Abbildungen für diesen Befund, so daß kein Vergleich möglich ist.

Wichtig ist das gleichzeitige Vorkommen von Chondriosomen und Plastiden, da mit der befruchteten Eizelle ein neuer Entwicklungszyklus beginnt, der beide Zellelemente von Anfang an besitzt.

c) Die Lage der Teile des Eiapparates zueinander. Ein besonderes Augenmerk habe ich auf das Studium der Lagebeziehungen der Einzelteile des Eiapparates, also der Synergiden zur Eizelle, gerichtet (Abb. 2, Fig. 1a—h). Ich habe dabei sowohl die Lage zum Raphenbündel der Samenanlage, wie die Lage zur Placenta berücksichtigt. In keinem Fall konnte trotz der zahlreichen daraufhin untersuchten Fälle eine bestimmte und gesetzmäßige Beziehung festgestellt werden.

Es ist also durchaus dem Zufall überlassen, wie der Eiapparat in den Schnitten getroffen wird. Ich halte es deswegen auch für überflüssig, hier neue Ausdrücke wie „Sagittal- und Frontalschnitt" (SCHNARF 1929, 132) einzuführen, zumal, wie SCHNARF selber zugibt, „eine bestimmte Orientierung dieser beiden Hauptschnittrichtungen zur Symmetrieebene der Samenanlage" nicht zu bestehen scheint.

Im Fall von *Impatiens glanduligera* liegen die beiden Synergiden stets so, daß sie sich an der Flanke berühren (Abb. 1, Fig. 5a), jedoch erfolgt die Berührung nicht längs der ganzen Flanke, sondern es wird meist noch eine Spalte freigelassen. Die Eizelle liegt den beiden Synergiden auf, ist also niemals von den beiden Synergiden flankierend umschlossen (Abb. 2, Fig. 1a—h). In einem derartigen Fall läßt sich nur schlecht von einer Symmetrieebene des Eiapparates sprechen. Die beiden Synergiden sind fast immer tiefer inseriert als die Eizelle, nur in einem von etwa 500 untersuchten Fällen konnte ich feststellen, daß die eine der Synergiden wesentlich höher als die Eizelle gelagert war und keine Verbindung mit der Mikropyle hatte.

Über die große Festigkeit, mit der der Eiapparat der Embryosackwandung anhaftet, finden sich Angaben bei ANDREWS (1927, 265), wonach erst eine Zentrifugalkraft von "5000 gravities acting for one hour" den Eiapparat von *Epigaea repens* loslöste und ihn an das zentrifugale Ende des Embryosackes trieb. Auch diese Kraft genügte nach den Angaben von ANDREWS noch nicht immer, um die Loslösung und Verlagerung zu vollziehen. Daß die überaus feste Insertion des Eiapparates keine Einzelerscheinung ist, beweisen die früheren Untersuchungen von ANDREWS (1915, 242—243), wo er bei zweistündiger Einwirkung einer Zentrifugalkraft von 5000 g im Embryosack von *Torenia asiatica* nicht immer eine Verlagerung des Eiapparates erreichen konnte. Als bemerkenswert erscheint mir hierbei die Tatsache, daß die Synergiden fester haften, denn in seiner Fig. 8 der Tafel 1 ist die Eizelle losgerissen, während die Synergiden noch haften. Und in Fig. 9 ist

die Eizelle und eine der Synergiden teilweise zerrissen. Die Insertion der Synergiden muß also in diesem Fall so fest sein, daß eher ein Zerreißen der Zelle als ein Loslösen erfolgt.

Für die Festigkeit, mit der der Eiapparat von *Impatiens glanduligera* an der Embryosackwandung haftet, scheinen folgende Tatsachen von Bedeutung: 1. das Eindringen der Synergiden mit ihrer Synergidenkappe in die Mikropyle, 2. die Lage der Zellen des Eiapparates zueinander, wobei der Eiapparat als Ganzes ein Widerlager in dem engen mikropylaren Teil des Embryosackes findet und der gegenseitige Druck der Zellen aufeinander von Bedeutung ist, wie auch der Umstand, daß die verknickten Synergiden oft geradezu die Eizelle zwischen sich festklemmen, und 3. der Druck der Embryosackvakuole, der den gesamten Eiapparat noch fester in seinen engen Raum preßt.

3. Der Weg des Pollenschlauches.

Die Blüten von *Impatiens glanduligera* LINDLEY sind chasmogam, kleistogame Blüten, wie sie bei anderen Balsamineen, wie z.B. bei *Impatiens Noli-tangere* (LONGO 1910) und *Impatiens fulva* (CARROLL 1919), neben chasmogamen beobachtet wurden, konnte ich nicht feststellen (über Kleistogamie bei Balsamineen vgl. UPHOF 1938, 39). Zwergformen, wie sie MAGNUS (1881, 30) beschrieben hat, und Zwergblüten, wie sie LOEW (1892, 179) gesehen hat, konnte ich trotz langer Beobachtungszeit an verschiedenen Standorten bei *Impatiens glanduligera* nicht finden.

Als Bestäuber wurden fast ausschließlich Hummeln beobachtet. Nach KNUTH (1904, III, 467) kommen in der ostindischen Heimat von *Impatiens glanduligera* auch Honigvögel als Bestäuber in Frage.

Zur Morphologie und Anatomie des Fruchtknotens ist zunächst im Hinblick auf SAUERS Arbeit (1933) kritisch zu sagen: SAUERS Auffassung, daß den Balsamineen der Griffel fehle und die Narben unmittelbar den Karpellen aufsitzen (1933, 431), ist vom Standpunkt der GOEBELschen Nomenklatur richtig. SAUER überträgt die physiologische Leistung des Griffels auf den oberen, parakarpen Teil des Fruchtknotens.

Folgen wir hingegen der Nomenklatur HANFS (1936), eines Schülers von TROLL (vgl. hierzu auch BAUMS Griffeldefinition 1948), so erkennen wir in diesem sterilen, parakarpen Anteil (Zone 2 der Abb. 4) des sonst coenokarpen Fruchtknotens (Zone 4 der Abb. 4) definitionsgemäß das Organ für die Leitung der Pollenschläuche: den Griffel, und in den 5 meist Narben genannten Gebilden die freien Griffeläste oder Stylodien (Zone 1 der Abb. 4), an deren Innenseite die sezernierenden Flächen: die Narben sitzen. Wie ein Blick auf die Abb. 4 zeigt, liegt kein Grund vor, das Vorhandensein eines Griffels zu leugnen, auch wenn er sich äußerlich nicht deutlich vom Fruchtknoten abgrenzt.

Der keimende Pollen findet sich an zwei anatomisch ganz verschiedenen Stellen, besonders gehäuft ist er zwischen den Stylodien (Zone 1 der Abb. 4), deren 5 Narbenlappen im weiblichen Blühzustand ein wenig, wenn auch viel geringer als bei *Impatiens Sultani, parviflora, Balsamina* u.a., auseinander spreizen.

Ein geringerer Teil des keimenden Pollens befindet sich am oberen Teil des Pollenschlauchleiters etwa dort, wo die Ligula-Fortsätze vom Fruchtknoten abspreizend eine Glocke um diesen bildeten (Zone x der

Abb. 4). Diese zweite Belegungsstelle ist anatomisch eindeutig charakterisiert durch schwach verdickte Epidermisaußenwände, eine sehr dünne Kutikula und durch das Fehlen von Gerbstoffen in der Epidermis. Das oben und unten anschließende Griffelgewebe führt hingegen reichlich Gerbstoff in der Epidermis und hat stark verdickte und kutinisierte Epidermisaußenwände. Diese verschiedene Form der Epidermiszellen ist ja ohne weiteres erklärlich, wenn man daran denkt, daß an dieser Stelle die Ligula-artigen Staubblattfortsätze sich dem Griffel eng anpreßten, so daß fast eine Verwachsung entstand, die erst beim Übergang in den weiblichen Blühzustand gelöst wurde (STEFFEN 1948a).

Diese Stelle ist wohl infolge des Lösens der Antherenkapuze und der dabei erfolgenden Benetzung belegungsfähig. Die Pollenkörner keimen hier normal, die Pollenschläuche bleiben jedoch sehr kurz. Es fehlt auch nicht an Eindringversuchen, wobei die Mittellamelle gespalten wird und der Pollenschlauch eine Zellage tief eindringt. Tiefer eindringende Pollenschläuche wurden niemals beobachtet: ein weiterer Beweis dafür, daß die Staubblattfortsätze nicht als Pollenfänger zu deuten sind (vgl. STEFFEN 1948a). Ob die großen, gerbstoffreichen, subepidermalen Zellen das weitere Vordringen hindern, sei dahingestellt.

Die Hauptbelegungsstelle sind jedoch die Narben. Die Griffeläste heben sich deutlich vom übrigen Griffelgewebe durch das Fehlen von Gerbstoffen ab. Die Innenfläche der Stylodien ist von den sezernierenden Narben bedeckt, die von plasmareichen, mit Hämatoxylin sich stark färbenden, nicht papillösen Zellen gebildet wird. Eine Volumzunahme der Kerne in den Narbenzellen wurde nicht beobachtet.

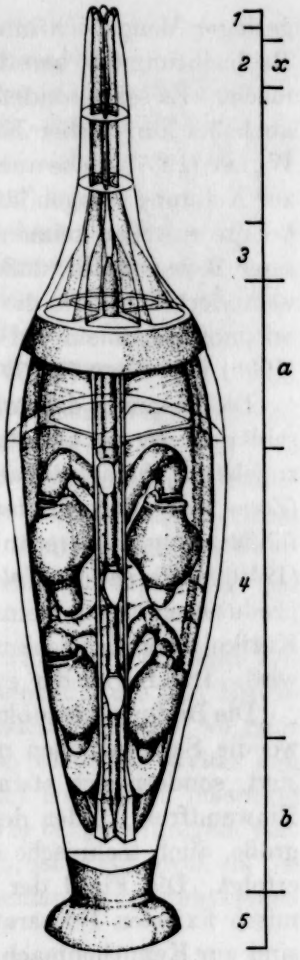


Abb. 4. Fruchtknoten von *Impatiens glanduligera*. Im coenokarpen Teil des Fruchtknotens halbiert. Halbschematisch. Vergrößerung etwa 15fach. Zone *1* Stylodien mit Narben (Hauptbelegungsstelle); Zone *2* parakarper Teil des Fruchtknotens = Stylus = Pollenschlauchleiter; *x* 2. Belegungsstelle (Zone der Ligularfortsätze); Zone *3* Übergang vom para- zum coenokarpen Fruchtknoten = Verteilerzone; Zone *4* synkarper Teil des Fruchtknotens; *a* obere Ovula entfernt; *b* unterer schleimfreier Abschnitt des Fruchtknotens; Zone *5* Ansatz des Blütenstieles.

Die Keimung des Pollens findet in der Grube zwischen den Narbenlappen statt. Zur Keimung gelangt nur Fettpollen, während der in

geringer Menge sich immer findende Stärkepollen nicht keimt. Dieselbe Beobachtung hat bereits WULFF (1934c, 73) bei *Impatiens Holstii* gemacht. Es sei besonders darauf hingewiesen, daß der Stärkepollen sich auch bei künstlicher Kultur, deren Methodik durch MAHESHWARI und WULFF (1937) (siehe auch DAHLGREN 1941) hinlänglich bekannt ist, nicht zur Keimung bringen läßt. Fremder Pollen, darunter auch Stärkepollen, konnte zuweilen keimend in der Narbengrube gefunden werden; ein weiterer Beweis dafür, daß der Stärkepollen der Balsamineen pathologisch verändert ist. — Für die Verfolgung der Pollenschläuche im Fruchtknoten sei ganz allgemein auf die Methode von SWAMY (1948b), FAGERLIND (1936) und JOST (1907) hingewiesen.

Die Keimung des Pollens findet stets monosiphon statt. Die Pollenschläuche werden auf kontinuierlicher Schleimbahn ektotrop dem Ovulum zugeleitet. Zunächst wachsen die Pollenschläuche im Pollenschlauchleiter (Zone 2 der Abb. 4) abwärts, oft in so großer Zahl, daß sie den ganzen fünfstrahligen Querschnitt des Leitkanals fast füllen [vgl. LONGOS Abb. 5 (1910) für *Impatiens Noli-tangere*]. Die Epidermiszellen dieses Leitkanals produzieren den Schleim als subkutikularen Membranschleim, wobei die Kutikula von den schleimliefernden Epidermisaußenwänden abgestoßen wird. Die Kerne der epidermalen Zellen sind nicht vergrößert.

Die Bildung des subkutikularen Schleimes erfolgt zu einem Zeitpunkt, wo die Samenanlagen noch nicht voll entwickelt und befruchtungsreif sind, sondern sich etwa im Stadium der Fig. 4 der Abb. 1 befinden. Einwandfreie Bilder der Membranverquellung zu bekommen bereitet große, auch technische Schwierigkeiten, da die Verquellung sehr rasch erfolgt. Die Fig. 1 der Abb. 6 ist nach einem mit CARNOYschem Gemisch fixierten Präparat gezeichnet (in die Gerbstoff-führenden Zellen sind zur Kenntlichmachung die Fixierungsniederschläge des Gerbstoffes eingezeichnet) und stellt den sich bildenden Zelluloseschleim des Funiculus dar. Die Kutikula ist als ganze, noch unzerstörte Fläche durch die stark verquollene Zellulosemembran abgehoben. Zum Zeitpunkt des Eindringens der Pollenschläuche ist die Kutikula längst von dem sich ausdehnenden Schleim zersprengt und nur noch in Fetzen nachweisbar (z. B. Abb. 6, Fig. 2).

Die Hauptprobleme sind nun Zuleitung und Verteilung der Pollenschläuche, worauf in letzter Zeit RENNER und PREUSS-HERZOG (1943) und KAIENBURG (1950) besonders hingewiesen haben.

Aus dem engen Leitkanal austretend, gelangen die Pollenschläuche in die Verteilerzone (Zone 3 der Abb. 4). Hier in der Übergangszone vom parakarpen zum coenokarpen Fruchtknoten werden sie durch die in ihrem oberen Teil verbreiterten Scheidewände der Mittelsäule und damit den einzelnen Fächern zugeleitet. Da die Funiculi der oberen Samenanlagen und die Samenanlagen selbst sich den verbreiterten Scheide-

wänden zum Teil eng anlegen und so eine kontinuierliche Schleimfläche bilden, wird ein großer Teil der Pollenschläuche auf dem Wege zum Mittelstrang bereits von diesen Samenanlagen abgefangen. Weitere Pollenschläuche finden ein wenig tiefer unmittelbar den Weg ohne Benutzung der Funiculi, wie die Fig. 2 der Abb. 6 zeigt, auf der die Pollenschläuche vom Mittelstrang (links in der Abbildung) kommend das äußere Integument (Bildmitte) übersteigen. Daß auch hier das Wachstum in einer Schleimbahn erfolgt, beweisen die abgerissenen Kutikulareste, die den Weg der Pollenschläuche begleiten. Die für die Pollenschläuche besonders günstige Lage der oberen Ovula erklärt die besonders frühzeitige und reichliche Befruchtung der obersten Samenanlagen.

Die übrigen Pollenschläuche, die nicht auf diesen Wegen zu den oberen Samenanlagen gelangten, wachsen den Mittelstrang abwärts. Die Zuleitung zu den tiefer gelegenen Ovula erfolgt auch durch eine kontinuierliche Schleimbahn. Schleimführend sind der Mittelstrang in seinem oberen Teil, soweit er Samenanlagen trägt (vgl. Abb. 4), und der Funiculus. Schleimfrei sind dagegen die innere Fruchtknotenepidermis und die Ovula selber.

Die Verteilung innerhalb der Fächer erfolgt willkürlich und dem Zufall überlassen. Trifft ein Pollenschlauch auf seinem Wege den Mittelstrang abwärts auf einen spitzwinklig abstehenden Funiculus, so folgt er dessen Verlauf; trifft er ihn jedoch nicht, so wächst er weiter den Mittelstrang abwärts bis er im selben Fach auf eine tiefer inserierte Samenanlage trifft. Die Wahrscheinlichkeit, daß er bei geradlinigem Verlauf auf eine tiefer inserierte Samenanlage trifft, ist recht groß, da die Samenanlagen eines Faches stets ein wenig gegeneinander verdreht stehen (s. Abb. 4).

Die Tatsache, daß die unteren Samenanlagen trotz normaler Ausbildung oft spät oder gar nicht befruchtet werden, beweist wie gut in jedem Fach die beiden oberen (zuweilen sind es auch drei) Samenanlagen die Pollenschläuche abfangen. Es sind immer nur noch wenige Pollenschläuche, die den Weg zur unteren Samenanlage suchen. Daß die mangelhafte Befruchtung der unteren Samenanlagen nicht darauf zurückzuführen ist, daß der Weg für den Pollenschlauch zu lang ist, sondern daß einzig und allein die geringe Anzahl der bis dorthin vordringenden Pollenschläuche dafür verantwortlich ist, beweisen die zahlreichen Fälle, wo auch die unteren Samenanlagen normal befruchtet werden und normale Embryonen entwickeln.

Das oft beobachtete Fehlschlagen der unteren Samenanlagen der Balsamineen ist eine sehr komplexe Erscheinung, auf die ich an anderer Stelle näher einzugehen hoffe. Das Fehlschlagen der unteren Samenanlagen ist im wesentlichen auf drei Ursachen zurückzuführen: 1. der Embryosack ist nicht normal entwickelt, 2. der Pollenschlauch erreicht das Ovulum nicht und 3. der Embryo abortiert frühzeitig.

Verfolgen wir nunmehr weiterhin den Weg des Pollenschlauches auf dem Funiculus, so werden wir beobachten, daß er sich stets auf der nach außen (der inneren Fruchtknotenwandung zu) gekehrten Fläche hält (Abb. 5). Seine Erklärung findet dies Verhalten darin, daß die Schleimproduktion auf der dem Mittelstrang zugekehrten Fläche des Funiculus fehlt. Hier tritt an die Stelle der schleimbildenden eine gerbstoffführende Epidermis.

Von besonderem Interesse ist die Einrichtung, die es ermöglicht den Pollenschlauch von der Außenseite des Funiculus zur Mikropyle zu leiten.

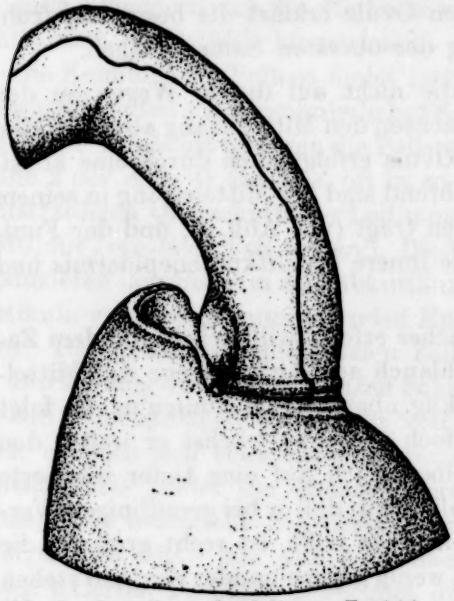


Abb. 5. *Impatiens glanduligera*. Funiculus und oberer Teil des Ovulums mit Weg des Pollenschlauches. Vergrößerung etwa 175fach. An der Grenze zwischen Funiculus und Ovulum die Schleimrinne.

Das Ovulum selber besitzt keine verschleimende Epidermis, statt dessen aber stark gerbstoffführende Epidermiszellen. Die Übergangsstelle vom Funiculus zum Ovulum ist also deutlich durch den Wechsel der Epidermiszellen gekennzeichnet (Abb. 6, Fig. 1). Das Ovulum hat bereits an seiner Ansatzstelle einen größeren Durchmesser als der Funiculus, so daß an dieser Übergangsstelle eine Furche entsteht. Diese ist noch besonders dadurch vertieft, daß der Funiculus hier meist eine ringförmige Eindellung aufweist. So entsteht eine Ringfurche, die von besonders viel Schleim erfüllt von außen nach innen zieht (Abb. 5). Ihr folgt der Pollenschlauch, und da die Schleimrinne durch den oberen ins äußere Integument auslaufenden Rand des Ovulums gebildet wird, gelangt er somit zur Mikropyle. Besonders zu bemerken ist, daß die Verwachsungsstellen des äußeren Integuments verschieden hoch liegen und daß die Schleimbahn zu der tiefer gelegenen führt (Abb. 5). Der dem Funiculus zugekehrte Teil des äußeren Integuments ist mit diesem verwachsen und bildet so eine Verengerung des Einganges und gewährleistet gleichzeitig eine bessere und sichere Zuleitung zur Mikropyle. Zu betonen ist, daß gleich oberhalb dieses verwachsenen Integuments die Schleimepidermis durch die gerbstoffführende des Funciulus ersetzt ist.

Die Zuführung der Pollenschläuche auf der Schleimbahn ist gleich wirksam, wie auch die Samenanlagen zum Mittelstrang gestellt sein mögen. Von der Normallage über eine Horizontalstellung bis zur Inverslage kommen alle Übergänge vor (STEFFEN 1946). Die Befruchtung erfolgt überall gleich gut.

An dieser Stelle sei noch einmal besonders auf die bereits von SAUER (1933, 450) erwähnten Wasserspalten der inneren Fruchtblattepidermis hingewiesen, die es ermöglichen, eine feuchtigkeitsgesättigte Atmosphäre zu schaffen und so die Schleimbahn vor Feuchtigkeitsschwankungen schützen.

Die Zahl der Pollenschläuche, die den Ovula zugeführt werden, ist besonders bei den oberen Samenanlagen sehr groß. In dem engen Raum zwischen Integument und Funiculus behindern sie sich gegenseitig (die Fig. 2 der Abb. 6 gibt als Schnittpräparat nur einen Teil davon wieder). Häufig wurde beobachtet, daß sich Pollenschläuche mehr oder minder eng umwinden. Eine derartige Torsionstendenz wurde auch zuweilen in künstlicher Kultur beobachtet.

Die in vorstehendem dargetanen morphologisch-anatomischen Gegebenheiten genügen meines Erachtens eine zufallsgemäße und mechanische durch Chemotropismus kaum, vielleicht durch Hydrotropismus oder negativen Aerotropismus (wie KAIENBURG 1950, 407 meint) geförderte Zuleitung der Pollenschläuche zu den Ovula zu erklären. Die Frage eines Konzentrationsgefälles, wie sie KAIENBURG (1950, 426) erwähnt, bliebe zu prüfen.

Zu verfolgen ist noch das letzte Wegstück des Pollenschlauches bis zur Mikropyle. Eine besondere Ausrichtung der Pollenschläuche findet auf diesem Wege nicht statt. Es wurde häufig beobachtet, daß Pollenschläuche in den Winkel zwischen innerem Integument und dem mit dem Funiculus verwachsenen äußeren Integument einzudringen versuchen (Abb. 6, Fig. 4). Oft wurde auch ein Überkreuzen der Mikropyle gesehen. Diese Befunde stehen solchen gegenüber, wo der Pollenschlauch anscheinend auf geradlinigem Weg die Mikropyle findet und in sie eindringt. Bei der Bewertung dieser Tatsachen muß bedacht werden, daß der Raum zwischen den äußeren Integumenten recht eng ist, so daß die geradlinige Zuleitung eigentlich das Gegebene wäre. Um so schwerer wiegen die Fälle, wo bei intakten Synergiden der Eingang nicht gefunden wird.

Da die Synergiden nach häufig vertretener Ansicht (auch KAIENBURG 1950 spricht von einer vielleicht möglichen Anlockung durch den Embryosack, ebenfalls SCHWEMMLE 1949) Anlockungsstoffe für die Pollenschläuche ausscheiden sollen, habe ich ein besonderes Augenmerk auf das Verhalten der Pollenschläuche gerichtet, nachdem ja bereits die cytologische Untersuchung keine Anhaltspunkte für eine derartige Sekretion ergab.

Von entscheidender Bedeutung für diese Frage scheinen mir außer dem obigen Befund folgende Tatsachen:

1. Der Pollenschlauch dringt auch in abortierte Samenanlagen ein, die bereits im Stadium der Makrospore abgestorben sind, wie die Fig. 3 der Abb. 6 beweist; eine Öffnung findet jedoch nicht statt. Aus der Literatur sind solche Fälle bekannt und des öfteren beschrieben worden, so z. B. bei *Juglans* von NAWASHIN und FINN (1913, table 1, Fig. 12), und bei *Crepis capillaris* von GERASSIMOVA (1933, 130, Fig. 45a, 46 und 49).

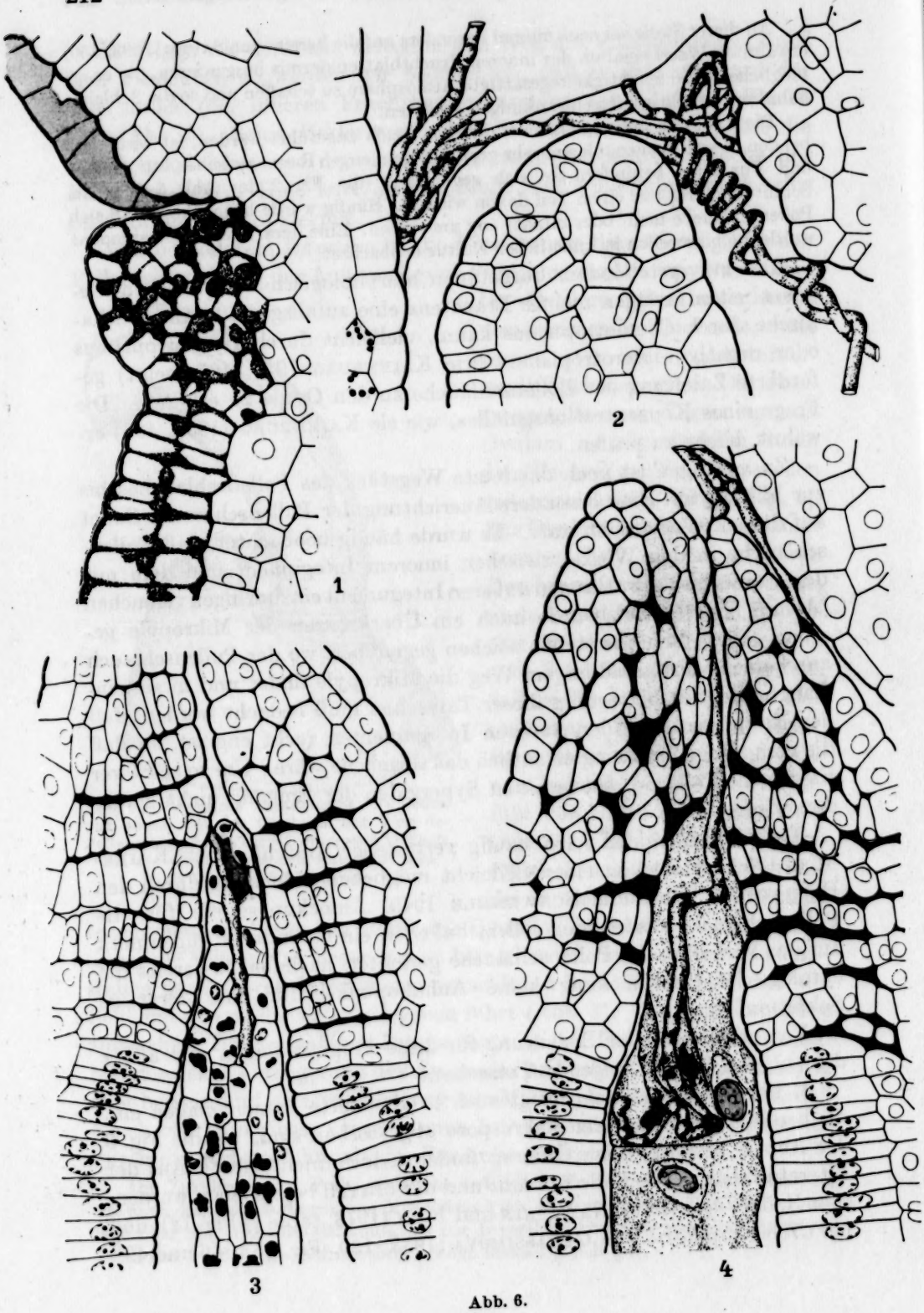


Abb. 6.

2. Der Pollenschlauch dringt auch in Embryosäcke ein, deren Synergiden bereits beide durch eingedrungene Pollenschläuche zerstört sind, wofür die Fig. 4 der Abb. 6 ein Beispiel bringt. So konnten außer den beiden Pollenschläuchen, die die Synergiden zerstört hatten, maximal noch zwei weitere beobachtet werden, die ohne Öffnung in den Embryosack eindrangen. Wollte man die Sekretionstheorie stützen, so müßte man an eine auch über den Tod der Synergiden hinaus wirkende, also nicht an eine Zufuhr gebundene Wirkung der sezernierten Stoffe denken. Dies erscheint unglaubhaft, weil bei bereits in die Mikropyle vordringenden und diese ganz ausfüllenden Endospermhaustorien noch Pollenschläuche in die Mikropyle eindringen.

Zieht man aber 3. den schon vorhin beschriebenen Fall des Überkreuzens und Nichtfindens der Mikropyle in Betracht, so wird man zum mindesten für die Balsamineen die Theorie von der Anlockungsfunktion der Synergiden fallen lassen.

Das Eindringen der Pollenschläuche erfolgt stets poro- und akrogam. Eine Stauchung der Pollenschläuche vor der Mikropyle und eine dadurch verursachte Anschwellung wie sie SWAMY (1948a, Fig. 3a) bei *Trillium undulatum* sah, konnte ich nicht beobachten. In die Mikropyle können mehrere Pollenschläuche zu gleicher Zeit eindringen, doch ist dies nicht die Regel. Der Pollenschlauch läßt sich in der Mikropyle oft nur schwer verfolgen. Auf seinem Wege zum Embryosack trifft er zwangsläufig auf die Synergiden. In eine von ihnen dringt er ein.

Die z. B. von WEST (1930) geäußerte Ansicht von der physiologischen Verschiedenheit der Synergiden kann nicht gestützt werden. Wie ich schon früher bewies, ist die Lagerung der Zellen des Eiapparates willkürlich, so daß sich gar kein Anhaltspunkt für eine vergleichende Auszählung ergibt. Entscheidend ist die Tatsache, daß beide Synergiden nacheinander oder fast gleichzeitig Pollenschläuche aufnehmen können und in 95% aller beobachteten Fälle bei *Impatiens glanduligera* auch aufnehmen. Die Synergiden sind also physiologisch gleichwertig.

Abb. 6. *Impatiens glanduligera*. Vergrößerung 700fach. 1—3 Eisenhämatoxylin-Färbung. 4 FEULGENsche Nuklealreaktion. 1 Bildung des subkutikularen Membranschleims an der Grenze Funiculus-Ovulum. In die Zellen des Ovulums sind zur Kennzeichnung die Kernumrisse eingezeichnet. In den Zellen des Ovulums zum Teil die Fixierungsniederschläge des Gerbstoffs. 2 Pollenschläuche vom Mittelstrang (links) kommend auf dem Wege zur Mikropyle das äußere Integument (Bildmitte) übersteigend. Rechts im Bilde der mit dem Funiculus verwachsene Teil des äußeren Integuments. Diagonal verlaufend und links oben Reste der Kutikula. 3 Im Stadium der Makrospore abgestorbener Embryosack mit eingedrungenem, sich nicht öffnendem Pollenschlauch. 4 Medianschnitt durch den oberen Teil des Embryosackes. Ein dritter Pollenschlauch ist ohne zu platzen in den Embryosack, dessen Endosperm bereits 6kernig ist, eingedrungen. In dem fast waagerecht verlaufenden Abschnitt der vegetative Kern und die beiden sich teilweise überlagernden Spermazellen. Links und rechts des Pollenschlauches Reste der Synergiden. Links unten am Pollenschlauch ein Synergidenkern und darüber der vegetative Kern des sekundären (im Schnitt nicht sichtbaren) Pollenschlauches, halb vom Pollenschlauch verdeckt die beiden sekundären Spermazellen. Rechts vom Pollenschlauch der Kern der zweiten Synergide.

Für das Studium der Befruchtungsvorgänge sollte als allgemeine Voraussetzung die Lebenduntersuchung der Pollenschläuche in künstlicher Kultur und ihre anschließende Fixierung und Färbung gefordert werden. Nur so ist eine Selbstkritik möglich (vgl. hierzu auch die Legende zu Abb. 7).

Besonders zu beachten waren die Frage, ob Spermazellen oder nur Spermakerne gebildet werden, die Zahl, Form und Strukturveränderungen der männlichen Gameten und das Verhalten des vegetativen Kernes. Zu diesem Zwecke habe ich Pollen von *Impatiens glanduligera, parviflora, Noli-tangere* und *Balsamina* auf Gelatine-Nährböden (1 g oder 2,5 g Saccharose auf 3 g Gelatine und 100 cm^3 Leitungswasser) gezogen und mich dabei der Methodik von MAHESHWARI und WULFF (1937) bedient (dort Literaturübersicht über die Technik, siehe auch DAHLGREN 1941, speziell für Balsamineen). Ein Borsäurezusatz erübrigte sich nach dem von SCHMUCKER (1935) festgestellten geringen Borsäurebedarf von *Impatiens glanduligera*. Besonderer Wert wurde auf die Ausführung der Nuklealreaktion gelegt, deren Technik ich bereits an anderer Stelle genau beschrieben habe (STEFFEN 1947).

Auf die bereits vorliegenden Pollenschlauchuntersuchungen an Balsamineen (WULFF 1934a: *Impatiens Holstii, Petersiana* und *Sultani*; 1934b: *Impatiens parviflora*; 1934c: *Impatiens Holstii*; 1934d: *Impatiens Petersiana*; HEITZ und RESENDE 1936: *Impatiens Balsamina*; RAGHAVAN, VENKATASUBBAN und WULFF 1939: *Impatiens Balsamina*) sei hier nur kurz verwiesen, da sie außer der Arbeit von WULFF (1934a) für unsere Fragestellung nicht ergiebig sind.

Von meinen Beobachtungen, deren Gesamtergebnisse ich an anderer Stelle zu veröffentlichen beabsichtige, sei nur das für unser Problem Wichtige mitgeteilt: der reife Pollen von *Impatiens glanduligera* ist 2kernig. Die Teilung der generativen Zelle findet niemals in der Anthere statt, wie von WULFF (1934b) bei *Impatiens parviflora* vermutet, kann aber vor Austreiben des Pollenschlauches im keimenden Pollenkern stattfinden. Darin stimmen meine Beobachtungen mit denen von HEITZ und RESENDE (1936) überein. Der vegetative Kern wandert fast stets (Ausnahme 2%, vgl. auch KAIENBURGs Beobachtung 1950, 389) vor der generativen Zelle in den Pollenschlauch ein, wird aber häufig während des Pollenschlauchwachstums von den Spermazellen überholt; ein Befund, der von einigem Interesse ist, wie PODDUBNAJA-ARNOLDI (1935) an Hand ihrer Befunde an *Aconitum lycoctonum, Allium cepa* und *Secale cereale* betont (dort weitere Angaben über ähnliche Fälle). In älteren Pollenschlauchkulturen ist der vegetative Kern mit Eisenhämatoxylin schwer oder überhaupt nicht mehr und mit der Nuklealreaktion oft schwer nachweisbar. Im Fruchtknoten ist die Nuklealität des vegetativen Kernes merkwürdigerweise viel stärker als in künstlicher Kultur. Färbungs- und Strukturverhalten des vegetativen Kernes lassen den Verdacht auf Depolymerisation der Thymonukleinsäure aufkommen.

Der vegetative Kern ist sehr variabel in seiner Form (vgl. Abb. 7a, b, d und e), oft nimmt er eine auseinandergezogene, fadenförmige Gestalt an, wobei er zuweilen sich durchschnürend in Teilstücke zerfällt (Abb. 7d), die sich auch in Stadien, wo ihre Zusammengehörigkeit nicht mehr so deutlich ist, leicht mittels der Nuklealreaktion als Kernfrag-

mente identifizieren lassen (vgl. WULFFs Kritik an HERRIG 1934a, 45). Die Tatsache ist allgemein von Bedeutung, da sie das eventuelle Vorkommen überzähliger Chromatinbrocken im Embryosack erklären und so zur Deutung vielleicht auftretender X-Körper führen kann.

Die Teilung der generativen Zelle erfolgt durch Einschnürung. Die entstandenen Zellen sind zunächst einseitig zugespitzt (etwa von der Form der zweiten Spermazelle von rechts der Abb. 7b), später runden

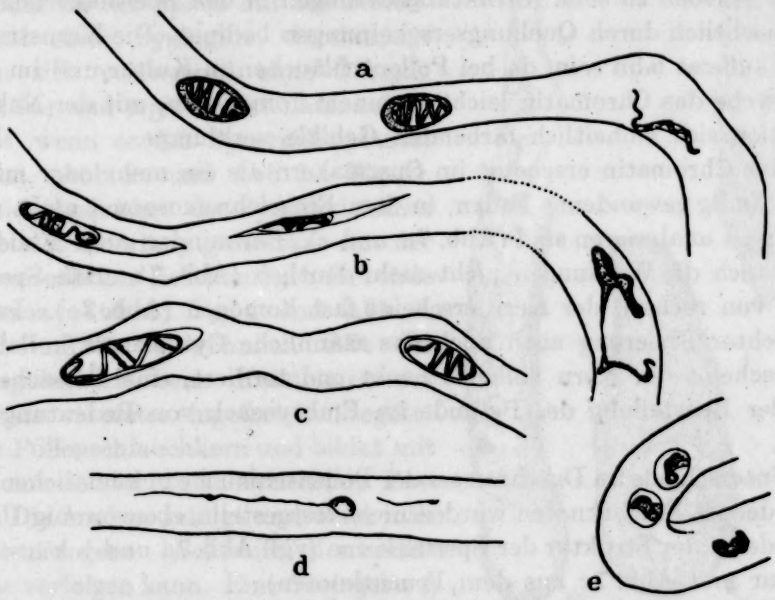


Abb. 7a—e. Pollenschläuche von *Impatiens glanduligera*. Wachstumsrichtung von links nach rechts. Fixiert mit NAWASHINscher Modifikation. Vergrößerung 2100fach. a, b und d auf Kultursubstrat; c und e aus demselben Fruchtknoten; a, c, d und e FEULGENsche Nuklealreaktion mit Lichtgrün-Gegenfärbung; b Eisenhämatoxylinfärbung; a und c gute; b und e schlechte Fixierung des Pollenschlauchinhaltes; d Fragmentation des vegetativen Kernes. Weitere Erklärungen im Text.

sie sich mehr ab (Abb. 7a). Das männliche Cytoplasma ist im Stadium der runden Zellen gut färb- und sichtbar (Abb. 7a), im Stadium der langgestreckten, spindelförmigen, wie sie in weiterwachsenden Pollenschläuchen anzutreffen sind (Abb. 7b), weniger gut sichtbar, da es hyalin wird und sich nicht mehr anfärbt. Diese Beobachtungen stimmen mit denen von WULFF an *Impatiens Holstii*, *Sultani* und *Petersiana* (1934a, 17) und an *Narthecium ossifragum* (1935, 85) überein. Die Tatsache des Hyalinwerdens des generativen Cytoplasmas war bereits ELFVING (1879) bei *Iris sibirica* aufgefallen.

Die männlichen Zellen zeigen keine auffallenden Einschlüsse im Cytoplasma, aus deren Transport etwas über ihr Verhalten im Embryosack ausgesagt werden kann. Größenunterschiede der beiden Spermazellen (z. B. Abb. 7c) und Strukturunterschiede der Kerne sind zuweilen fest-

zustellen, können aber nicht als Regel gelten und sind, wie die weitere Untersuchung zeigen wird, ohne Bedeutung.

Die Kernstruktur der Spermakerne könnte man vorsichtig mit prophaseartig beschreiben, da eine echte Prophasestruktur nicht vorliegt und die Kerne sich eben nicht vor einer Mitose befinden (vgl. GEITLER 1941/42, 193). Die Voraussetzungen für eine Anwendung des von MARQUARDT (1940/41) geprägten Ausdruckes „Spiremkern" scheinen mir nicht gegeben zu sein. Strukturänderungen in den Spermakernen sind offensichtlich durch Quellungserscheinungen bedingt. Die Kernstruktur muß äußerst labil sein, da bei Pollenschläuchen in Kultur und im Griffelgewebe das Chromatin leicht zu einem homogenen, mit der Nuklealreaktion sich einheitlich färbenden Gebilde verklumpt.

Das Chromatin erscheint im Spermakern als ein mehr oder minder vollständig gewundener Faden, in dem Einzelchromosomen nicht mehr sicher zu analysieren sind (Abb. 7a und c). Bei minder guter Fixierung sind auch die Windungen nicht mehr deutlich (Abb. 7b erste Spermazelle von rechts), der Kern erscheint fast homogen (Abb. 7e). Ist bei schlechter Fixierung auch noch das männliche Cytoplasma kollabiert, so erscheint der Kern vollends nackt und tordiert, eine Tatsache, die bei der Beurteilung der Befunde im Embryosack von Bedeutung sein wird.

Unterschiede im Durchmesser der Pollenschläuche in künstlicher Kultur oder im Fruchtknoten wurden nicht festgestellt, ebensowenig Unterschiede in der Struktur der Spermakerne (vgl. Abb. 7a und b künstliche Kultur und Abb. 7c aus dem Fruchtknoten).

4. Befruchtung.

Arbeiten, die die Allgemeingültigkeit der doppelten Befruchtung nachweisen sollen, gibt es sehr viele, aber wenige, die sich speziell mit dem Befruchtungsakt beschäftigen (vgl. vor allem die Kritik GERASSIMOVAS (1933, 103) und HOARES (1933, 279) und die Zusammenfassung der cytologischen Tatbestände bei TISCHLER (1943, 690ff.) und SCHNARF (1941b).

Der Befruchtungsakt selbst vollzieht sich in vier Etappen, die am besten durch die folgenden Stadien gekennzeichnet sind:

I. Eindringen des Pollenschlauches in den Embryosack, II. Wanderung der männlichen Gameten zu den weiblichen Kernen, III. Plasmaverschmelzung, IV. Kernverschmelzung.

I. Eindringen des Pollenschlauches in den Embryosack. Vom Augenblick des Kontaktes zwischen Synergiden und Pollenschlauch beginnt die bekannte technische Schwierigkeit der Untersuchung. Das sich ergießende Pollenschlauchcytoplasma färbt sich mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN so intensiv und diffus, daß Einzelheiten nicht mehr sichtbar sind (vgl. dazu Fig. 1 der Abb. 9 und Abb. 8c). Mit Gentianaviolett-Eosinfärbung ließ sich bei vorsichtiger Differenzierung der

kollabierte Synergidenkern blau auf rotem Grunde sichtbar machen. Die besten Resultate lieferte jedoch in diesem Fall wie bei MOHRBUTTER (1937, 67) und HAGERUP (1944) die Nuklealreaktion mit und ohne Lichtgrün-Gegenfärbung. Mit ihr ließen sich der Synergidenkern, die männlichen Kerne und meist auch der vegetative Kern des Pollenschlauches sicher nachweisen (Abb. 6, Fig. 4 und Abb. 9, Fig. 2 und 3).

Trotz dieser technischen Schwierigkeiten konnte Folgendes sichergestellt werden: Der Pollenschlauch trifft seitlich oder an der Spitze auf den Fadenapparat einer Synergide, durchdringt diesen sich verengernd ohne Öffnung (Abb. 8a) und ergießt erst dann seinen Inhalt, wenn er das Synergidenplasma berührt (Abb. 8c und Abb. 10, Fig. 1). Zugleich kollabiert der Synergidenkern und bildet eine lang gestreckte mit der Nuklealreaktion sich homogen färbende Substanz (Abb. 6, Fig. 4 und Abb. 9, Fig. 2 und 3). Gewöhnlich fällt der Synergidenkern beim Kollabieren auf den meist als erster eingetretenen vegetativen Pollenschlauchkern und bildet mit ihm eine schwer zu analysierende Einheit. Die Analyse gelingt nur, wenn man die ausgezogenen „Schweife" der beiden Kerne verfolgen kann. Eine Verlagerung des Synergidenkernes konnte ich in Übereinstimmung mit WYLIE (1941) nicht beobachten. Die Synergide platzt an ihrem vakuoligen Ende [eine Beziehung zwischen Bruchstelle und Lagerung der Eizelle, wie WYLIE (1941, 171) vermutet, konnte ich nicht feststellen] und schleudert mit mehr oder minder großer Vehemenz die männlichen Gameten aus, wie deren verschiedene Lagerung gleich nach Öffnung der Synergide beweist. Meist liegen sie in dem Plasmaraum zwischen Eizelle und sekundärem Embryosackkern (Abb. 9, Fig. 1), doch wurden sie auch über der geöffneten Synergide gesehen.

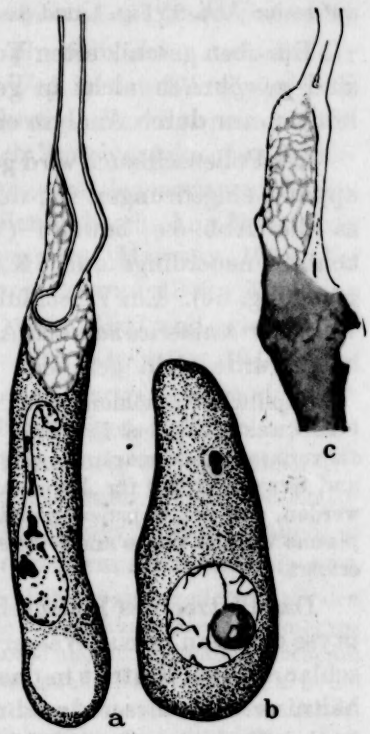


Abb. 8a—c. *Impatiens glanduligera*. Eisenhämatoxylin-Färbung. Vergrößerung 1050fach. a und c Synergiden im Kontakt mit Pollenschlauch; a Pollenschlauch dringt in Fadenapparat ein. c Mikropylarer Teil der Synergide nach Erguß des Pollenschlauchplasmas. Pollenschlauch durch Kallosepfropf abgeriegelt. b Dispermische Befruchtung der Eizelle. Obere Spermazelle noch mit deutlicher Plasmahülle. Unterer Spermakern oberhalb des Eikernnukleolus im Kontakt mit dem Eikern.

Die gleichen Befunde hatten u. a. auch GERASSIMOVA (1933) bei *Crepis capillaris*, HOARE (1933) bei *Scilla nonscripta* und SMITH (1942) bei *Camassia*. ISHIKAWA (1918) sah bei *Oenothera* und GUIGNARD (1902) bei *Nicotiana tabacum* und *Datura laevis* ebenfalls den Pollenschlauchinhalt sich in die Synergide ergießen.

Beim Studium von *Impatiens glanduligera* und *Mathildae* habe ich keine Anhaltspunkte für die Auffassung von OTTLEY (1918, 306) gefunden, wonach der Pollenschlauch nur über den Fadenapparat, ohne die Synergide selbst zu passieren, in den Embryosack eindringt. Die Fig. 37 und 38, die er für *Impatiens Sultani* gibt, sind nicht überzeugend. Ich verweise in diesem Zusammenhang noch einmal auf meine Abb. 9, Fig. 1 und 8c.

Die oben geschilderten Vorgänge vollziehen sich fast gleichzeitig und sind gewöhnlich nicht in getrennten Phasen zu beobachten, sondern können nur durch Analyse erschlossen werden.

Der Pollenschlauch wird gewöhnlich an der Stelle, wo er in den Fadenapparat eingedrungen ist, durch einen Kallosepfropfen abgeriegelt, wie es die Abb. 8c beweist (Verschluß durch Membranpfropfen beobachtete neuerdings auch KAIENBURG 1950, 393 bei *Hartmannia tetraptera* Fig. 6c). Ein Verschluß der Synergiden, wie ihn WYLIE (1941) bei *Vallisneria americana* nach Austritt der Spermazellen für wahrscheinlich hält, wurde nicht gesehen.

Rundliche Aushöhlungen in den Synergiden wurden nicht gesehen, wie sie z. B. DAHLGREN (1916) bei *Trientalis europaea* und *Statice bahusiensis* festgestellt und als verlassene Spermaräume gedeutet hat [vgl. auch JUEL (1907) für *Pirola minor* und STENAR (1925) für *Malva parviflora* und *neglecta*]. Daraus kann geschlossen werden, daß bei *Impatiens glanduligera* das Synergiden- und Pollenschlauchcytoplasma weniger viskos und seine Ausschleuderung schnell und mit großer Vehemenz erfolgt.

Das Platzen des Pollenschlauches kann etwa im Sinne einer Plasmoptyse durch zu rasche Wasseraufnahme erfolgen. Sicher trifft der Pollenschlauch beim Eintritt in das Synergidenplasma andere osmotische Verhältnisse. Bei dieser Annahme müßte man allerdings folgern, daß der in den Embryosack eindringende tertiäre Pollenschlauch dort dem gewohnten Medium ähnliche osmotische Verhältnisse findet und sich deswegen nicht öffnet. Denkbar ist weiterhin, daß das sich ergießende Pollenschlauchcytoplasma die Synergide zum Platzen bringt. Leider ist der Embryosack experimenteller Arbeit nicht zugänglich, so daß diese Fragen nicht geklärt werden können.

Folgende Befunde scheinen mir dafür zu sprechen, daß die Synergiden zum mindesten bei den Balsaminaceen die Öffnung des Pollenschlauches und die Weitergabe der männlichen Gameten bewirken:

1. In mangelhaft entwickelten und bereits dem Abort verfallenen Embryosäcken, in denen die Synergiden nicht normal entwickelt sind, kann der Pollenschlauch seinen Inhalt in die Synergide ergießen, ohne ohne daß diese sich öffnet.

2. Sind beide Synergiden durch eingedrungene Pollenschläuche zerstört, so können die nachfolgenden Pollenschläuche ohne Öffnung ein Stück weit in den Embryosack hineinwachsen (Abb. 6, Fig. 4). Es wurden häufig ein- und mehrfach zwei derartige Pollenschläuche im

Embryosack beobachtet, so daß insgesamt drei oder vier Pollenschläuche in den Embryosack eingedrungen sind.

Aus der Literatur sind genug Befunde bekannt, wo Pollenschläuche ohne Öffnung in den Embryosack eindrangen, so z. B. bei abnormen Embryosäcken von *Passiflora adenophylla* (Cook 1909) und *Epilobium angustifolium* (Modilewski 1909).

Bei den Balsamineen scheint also die physiologische Aufgabe der Synergiden den männlichen Gameten den Weg in den Embryosack zu öffnen besser begründet als die Sekretionstheorie. Verallgemeinern läßt sich dieser Befund jedoch nicht, da es ja auch Embryosäcke ohne Synergiden und solche mit bereits zur Befruchtungszeit degenerierten Synergiden gibt und Embryosäcke, in die der Pollenschlauch ohne Verletzung der Synergiden eindringt (z. B. bei *Fagopyrum* Mahony 1935, bei *Euchlaena* und *Zea* Cooper 1937, *Portulaca* Cooper 1940, *Nicotiana rustica* Cooper und Brink 1940, *Phryma* Cooper 1941 und gelegentlich bei *Citrus* Bacchi 1943 und *Wahlenbergia* Subramanyam 1948). Bei diesen Embryosäcken liegt sicher ein anderer Übertragungsmodus vor.

Der Zeitpunkt des Eindringens von überzähligen Pollenschläuchen kann eindeutig bestimmt werden an der Ablenkung der sich nicht öffnenden Pollenschläuche durch die bereits eingezogenen Wände des Endosperms. So ist z. B. in der Fig. 4 der Abb. 6 der Pollenschlauch in einen Embryosack eingedrungen, dessen Endosperm schon 6kernig war.

Der Fadenapparat der kollabierten Synergide bleibt, soweit er nicht durch den Pollenschlauch zerstört ist, noch lange bis in die Entwicklung des Pro-Embryos hinein erhalten und nimmt allmählich wellige Umrisse und unregelmäßige Form an. (Die Fig. 2—4 der Abb. 9 sind nicht ganz median geschnitten, so daß die in die Mikropyle vorragenden Fadenapparate nicht sichtbar sind.) Ob mit dieser Strukturänderung auch eine chemische Veränderung einhergeht, ist nicht geklärt. Von Bedeutung scheint es mir, auf eine gewisse Elastizität des Fadenapparates hinzuweisen, die ihn befähigt nach Entleerung des Pollenschlauches diesen mehr oder minder zusammenzupressen, wie die Abb. 8c zeigt.

Der geplatzte Synergidenkern ist als unregelmäßig geformte, homogene, Feulgen-positive Masse solange sichtbar (Abb. 6, Fig. 4), bis er durch die sich entwickelnden Endospermzellen überdeckt und verdrängt wird.

Wird nur eine Synergide durch einen eindringenden Pollenschlauch zerstört, was bei *Impatiens glanduligera* als Ausnahme beobachtet wird, so degeneriert die zweite noch vor Auswachsen des Endospermhaustoriums. Auch ihr Fadenapparat ist noch lange sichtbar und unterliegt derselben Strukturänderung wie der der zerstörten Synergide. Die Degeneration des Synergidenkernes vollzieht sich unter weiterer Zerstäubung des Chromatins (vgl. dazu Abb. 1, Fig. 5 und Abb. 8a) innerhalb des Kernraumes, wobei die kleinen Chromatinkörnchen als Feulgen-positiv besonders gut bei der Nuklealreaktion sichtbar zu machen sind. Mit der Zerstäubung des nuklealen Chromatins geht ein Abwandern der Thymonukleinsäure in den Kernsaft einher, so daß auch hier zum

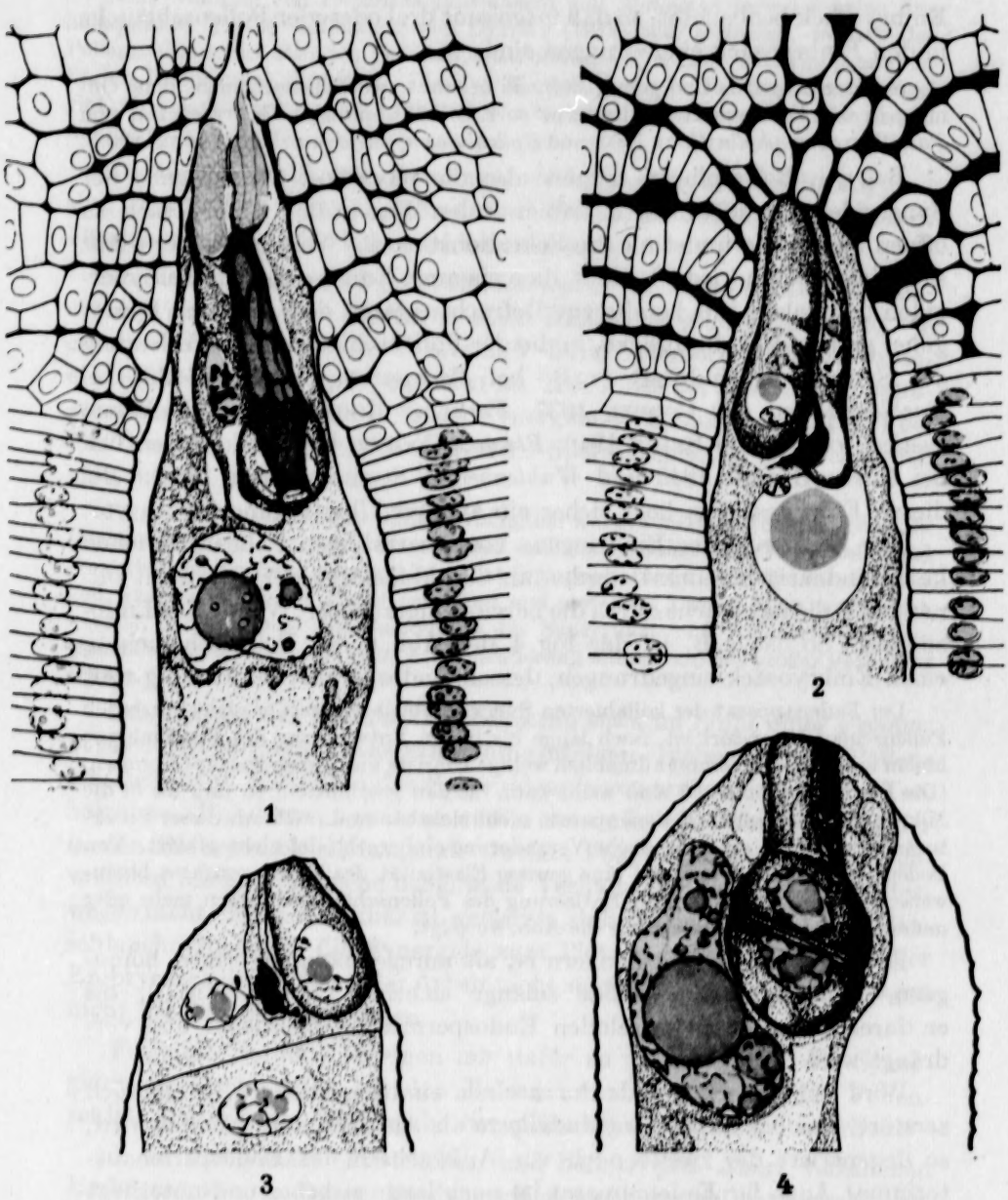


Abb. 9. *Impatiens glanduligera*. Vergrößerung 700fach. 1 und 4 Eisenhämatoxylin-Färbung; 2 und 3 FEULGENsche Nuklealreaktion. 1 Medianschnitt durch den oberen Teil des Embryosackes. Befruchtung. Ein Pollenschlauch ist in die Synergide eingedrungen, hat sie zum Platzen gebracht und die beiden Spermazellen, die im Bilde der Eizelle anliegen, entleert. 2 Anschnitt des Embryosackes. Späteres Befruchtungsstadium. Beide männlichen Kerne ohne Cytoplasma den weiblichen Kernen anliegend. Über der intakten Synergide der Erguß des Pollenschlauches mit dem Synergiden- und dem vegetativen Kern, die eine schwer zu analysierende Einheit bilden. 3 Anschnitt des Embryosackes. Beide Synergiden durch Pollenschläuche zerstört. Die primären Spermazellen sind zur Befruchtung gekommen. Der sekundäre Endospermkern hat sich bereits geteilt. Rechts oberhalb

Schluß eine homogene, Feulgen-positive Kernmasse resultiert. Das Kollabieren der Synergide selbst erfolgt zunächst in ihrem vakuoligen Teil.

Ein Wachsen der unzerstörten Synergide nach erfolgter Befruchtung, wie es WYLIE (1941, 171) bei *Vallisneria* sah, wurde nicht beobachtet.

Wird eine Samenanlage überhaupt nicht befruchtet, so degenerieren beide Synergidenkerne. Aus diesem und dem Verhalten gegen Pollenschläuche muß auf physiologische Gleichheit der Synergiden bei den Balsamineen geschlossen werden im Gegensatz zu WESTs Befunden bei *Viola* (1930, 101).

Eine Synergidenbefruchtung wurde nie beobachtet. Sie ist im Falle von *Impatiens glanduligera* auch praktisch unmöglich, da der Synergidenkern beim Eindringen des Pollenschlauches zerstört wird.

An dieser Stelle sei nochmals auf die bereits von SCHÜRHOFF (1931, 328 und 331) richtiggestellten „Verzweigungen" des Pollenschlauches im Embryosack von *Impatiens pallida* (RAITT 1916, Fig. 20) und *Impatiens fulva* (CARROLL 1919, 170 und Fig. 25 und 26) hingewiesen, die sich als Fehldeutungen und Verwechslungen mit den Synergiden erweisen. Selbst in den Fällen, wo Pollenschläuche nach Zerstörung der Synergiden in den Embryosack einwachsen, verzweigen sie sich nie, wie auch niemals auf künstlichem oder natürlichem Substrat derartige Verzweigungen oder Gabelungen beobachtet wurden. Es erübrigt sich damit weiter auf CARROLLS Angaben einzugehen.

Der Inhalt des Pollenschlauches ergießt sich zusammen mit dem Cytoplasma der zerstörten Synergide oft bis in den Zwischenraum zwischen Eizelle und sekundärem Embryosackkern (Abb. 9, Fig. 1) und ist bei Eisenhämatoxylinfärbung nicht genau zu analysieren. Bei dieser Lagerung wäre der Weg der männlichen Gameten zu den weiblichen Kernen nicht sehr weit. In seltenen Fällen wird außer den beiden Gameten auch noch der vegetative Kern entleert, jedoch wurde er nie auf dem Wege zu den weiblichen Kernen gesehen. Die Spermazellen sind, wenn sie sich aus dem dunklen Erguß (Abb. 9, Fig. 1) befreit haben, als solche gut zu erkennen, jedoch hat die Färbbarkeit des generativen Cytoplasmas bereits im Pollenschlauch nachgelassen, so daß nur noch ein heller, hyaliner Saum um die Spermakerne zu sehen ist (Abb. 6, Fig. 4, Abb. 9, Fig. 3 und Abb. 10 a, b, f, g, h—n), wie ihn z. B. GERASSIMOVA (1933) bei *Crepis capillaris* als „Nimbus" beschrieben hat. Daß Viskositätsänderungen des generativen Cytoplasmas die Unfärbbarkeit bedingen, hat bereits WULFF dargelegt (1934a und 1935; vgl. besonders

des oberen Endospermkernes der vegetative Kern dieses ersten Pollenschlauches. Die unten liegende zweite Synergide ist durch einen zweiten Pollenschlauch zum Platzen gebracht. Rechts unterhalb des Synergidenkernes in der Nähe der Eizelle die beiden sekundären Spermazellen. Der vegetative Kern ist als kleines Anhangsgebilde unten rechts vom Synergidenkern sichtbar. 4 Anschnitt des Embryosackes. Dispermie des primären Spermazellpaares. Der Pro-Embryo ist bereits 2zellig, während der sekundäre Embryosackkern nicht befruchtet wurde. Die zweite hier allein sichtbare Synergide ist durch einen zweiten Pollenschlauch zerstört, dessen beide Spermazellen noch im Bereich dieser Synergide sichtbar sind.

die Zusammenstellung über hyalines generatives Cytoplasma 1934a, 26 und neuerdings LA COUR 1949).

Die von TSCHERNOJAROW (1926, 202, Fig. 8 und 9) beschriebenen hellen „Aureolen" sind nach seiner Auffassung nicht „als Reste des Cytoplasmas der generativen Zelle" zu erklären, sind aber, wie die Fig. 8 und 9 zeigen, mit dem „Nimbus" GERASSIMOVAS durchaus vergleichbar. Eine Nachuntersuchung von TSCHERNOJAROWS Objekt, *Myosurus minimus*, hat meinen Verdacht bestätigt, daß auch hier hyalines, unfärbbares Cytoplasma vorliegt. Die von SCHÜRHOFF (1931, 335) für *Impatiens parviflora* beschriebenen und auf Tafel XVI, Abb. 5 gezeichneten und im Mikrophotogramm Tafel XIV, Abb. 15 dargestellten „zwei kräftig gefärbten Punkte" mit „je einem hellen Hof" sind sicher Spermazellen. Auf diesen Befund wird bei der Besprechung der Dispermie näher eingegangen werden.

In neuerer Zeit bildet WYLIE (1941) sogar Spermazellen mit vakuolisiertem Cytoplasma im Embryosack von *Vallisneria* ab.

Bei *Impatiens glanduligera* werden in seltenen Fällen beide Spermakerne in gemeinsamer Cytoplasmahaut entleert. In diesen wenigen Fällen war also die Durchschnürung ihres Cytoplasmas nach der Mitose des generativen Kernes nicht erfolgt. Normalerweise werden beide Spermazellen gesondert, aber fast gleichzeitig entleert. Sie sind in Form und Größe etwa gleich.

Die Form ihrer Kerne ist meist schwach U-förmig gebogen (Abb. 10a und b), stärkere Torsionen scheinen nach der Entleerung zunächst nicht aufzutreten. Eine Kernstruktur ist nicht zu beobachten, sie färben sich mit Eisenhämatoxylin völlig homogen und geben auch bei der Nuklealreaktion dasselbe Feulgen-positive Bild. Wir erinnern uns, daß bereits in Pollenschläuchen auf künstlichem Substrat oder im Fruchtknoten (Abb. 7) derartige Kernstrukturen auftraten. Dies legt den Schluß nahe, daß die Spermakerne sehr fixierungslabil sind. Vergleicht man aber die Kerne der Abb. 7 untereinander, so wird man zu der Ansicht kommen, daß nur unter ganz besonderen Umständen, äußeren oder inneren, dieses Fixierungsbild entsteht. Finden wir nun im Embryosack ähnliche oder fast gleiche Stadien (Abb. 10 g), so bleibt zu überlegen, ob diese Stadien unter dem Fixierungseinfluß entstanden sind, oder ob bei der Entleerung in das andere Medium eine ähnliche Schockwirkung wie bei der Fixierung wirksam war, so daß die gleiche Struktur entstand. Ich neige der zweiten Auffassung zu, da im Embryosack alle Übergänge bis zur normalen Spermakernstruktur zu beobachten sind, wie die Abb. 10 beweist. HAGERUPS (1944) Abbildungen, mit gleicher Methodik gewonnen, bestärken mich in dieser Auffassung.

Diese Frage ist von allgemeiner Bedeutung. Die Strukturänderungen der Spermakerne müßten an einem größeren Material kritisch untersucht werden, erst dann wird man die Strukturen im Embryosack mit größerer Sicherheit deuten können. Untersuchungen dazu sind im Gange.

II. Wanderung der männlichen Gameten zu den weiblichen Kernen. Von besonderem Interesse sind für diesen zweiten Schritt des Befruch-

tungsaktes die Form- und Strukturänderungen der männlichen Kerne, ihre Deutung als Bewegungsform oder als Reifungsvorgang, ihre physiologische Gleich- oder Ungleichheit, ihre Lageveränderungen, das Auffinden der weiblichen Kerne und schließlich das Eindringen in die Eizelle.

Die größten Schwierigkeiten hat von jeher die Beobachtung und Verfolgung der Spermazellen im Embryosack gemacht. Ich kann in diesem Zusammenhang noch einmal auf die Forderung von GERASSIMOVA (1933,136) verweisen, daß für ein

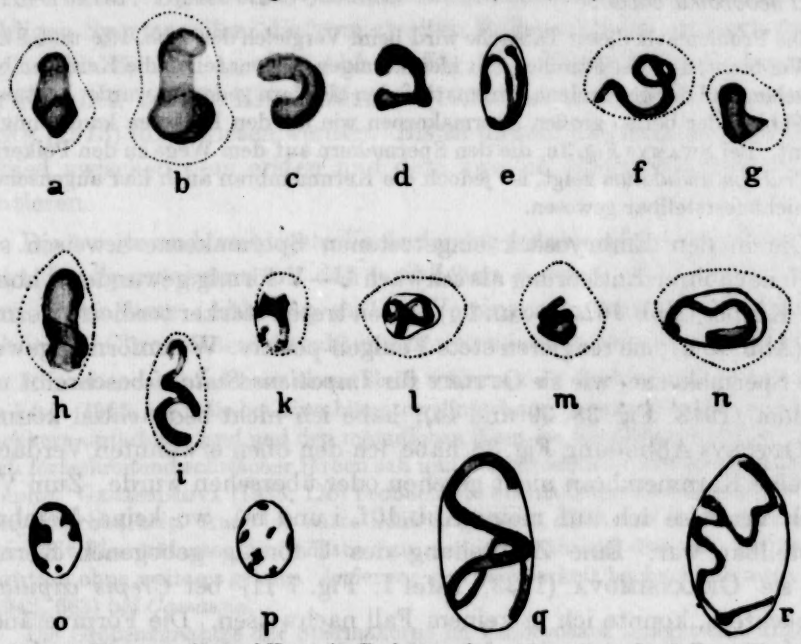


Abb. 10 a—r. Spermazellen und Kerne im Embryosack von *Impatiens glanduligera*. Vergrößerung 4200fach. a, f, g, h, i, k, l, m, n, q und r FEULGENsche Nuklealreaktion; b, c, d, e, o und p Eisenhämatoxylin-Färbung; a—n 1. Phase der Kernstrukturänderung; o—r 2. Phase; a, b, f, g, h, i, k, l, m und n Spermazellen; c, d, e, o, p, q und r Spermakerne; f u. g und h u. i sekundäre Spermazellpaare in natürlicher Lage zueinander; b, c, d, e, k, l, n, o, p, q und r primäre Spermazellen; a, f, g, h, i und m sekundäre Spermazellen. Weitere Erklärung im Text.

selbstkritisches Studium Befruchtungsstadien "en masse" notwendig sind. Da mit der Eisenhämatoxylinfärbung die Kernstrukturen wegen des sich intensiv färbenden Pollenschlauchplasmas nur schwer sichtbar zu machen sind, und überdies beim Reifungsvorgang die Spermakerne in ihrem Endzustand nur schwer und selten mit Sicherheit als solche darstellbar sind, habe ich die Nuklealreaktion bevorzugt.

Da die Form- und Strukturänderungen der Spermakerne häufig als Ausdruck einer Bewegung gedeutet werden, wollen wir zunächst diese Veränderungen kritisch betrachten. Sehen wir fürs erste von der plasmatischen Hülle der Spermakerne (durch punktierte Linie in Abb. 10 gezeichnet) ab, so bietet uns die Abb 10 zwei verschiedene Strukturbilder: in der einen ist eine Kernmembran sichtbar, wenn auch schwach (Abb. 10 e, k, l, n, o, p, q und r), in der anderen ist sie nicht festzustellen (Abb. 10 a,

b, c, d, f, g, h, i und m). In diesem Zusammenhange möchte ich vergleichend auf die von GERASSIMOVA (1933, Fig. 7, Tafel I) gegebene Abbildungsreihe verweisen. Form- und Färbbarkeitsänderung der in den Embryosack eingetretenen Spermakerne beobachtete letzthin auch HÅKANSSON bei sexueller *Poa alpina* (1943) HAGERUP (1944) bei *Orchis maculatus*, FAGERLIND (1946) bei *Rudbeckia laciniata* und GOODSPEED (1947) bei *Nicotiana*; Form- und Größenänderung HÅKANSSON (1947) bei *Theobroma cacao*.

Die Problematik dieser Tatsache wird beim Vergleich der Abb. 10e und f klar. Der Verdacht, daß bei Familien mit kleinkernigen Spermazellen die Kernmembran übersehen und der gewundene Chromatinfaden als Kern gedeutet wurde, liegt nahe. Ein Fehler, der bei so großen Spermakernen wie bei den Liliaceen kaum möglich scheint. Bei SWAMYS Fig. 3c, die den Spermakern auf dem Wege zu den Polkernen bei *Trillium undulatum* zeigt, ist jedoch die Kernmembran auch hier augenscheinlich nicht feststellbar gewesen.

Die in den Embryosack eingetretenen Spermakerne erweisen sich gleich nach ihrer Entleerung als schwach U—V-förmig gewundene, homogene Körper (Abb. 10a, b, c und g), selten treten stärker tordierte Formen auf (Abb. 10h); sie reagieren stets Feulgen-positiv. Wurmförmig gewundene Spermakerne, wie sie OTTLEY für *Impatiens Sultani* beschreibt und abbildet (1918, Fig. 38, 39 und 44), habe ich nicht beobachten können. Bei OTTLEYs Abbildung Fig. 38 habe ich den oben erwähnten Verdacht, daß eine Kernmembran nicht gesehen oder übersehen wurde. Zum Vergleich verweise ich auf meine Abb. 10f, i und m), wo keine Membran feststellbar war. Eine Zweiteilung des U-förmig gebogenen Kernes, wie sie GERASSIMOVA (1933, Tafel I, Fig. 7 II) bei *Crepis capillaris* beobachtete, konnte ich in keinem Fall nachweisen. Die Formveränderungen der Spermakerne sind bei *Impatiens glanduligera* nicht so groß wie bei *Crepis capillaris*, vor allem treten nicht so starke Torsionen auf. Auffälliger und wichtiger erscheinen die Änderungen der Kernstruktur.

Zunächst beginnt die homogene Kernmasse sich aufzulockern (Abb. 10k), wobei die Kernmembran und die Karyolymphe zwischen eng verschlungenen Chromatinfäden sichtbar werden (Abb. 10l). Meist ist dieser Vorgang mit Größenzunahme verbunden. Ob es sich bei dieser Auflockerung und dem Auftreten von Binnenstrukturen um eine Entmischung handelt, ist nicht geklärt. Mit dieser beginnenden Auflockerung wird zugleich ein stark verschlungenes, schwer analysierbares Fadensystem (Abb. 10l) sichtbar, das sich in den folgenden Stadien zu entrollen und zu strecken beginnt (Abb. 10m, n, i, f, e). Eine Parallellagerung dieser Fäden konnte ich bei *Impatiens glanduligera* nicht feststellen. Die Kernmembran ist während dieser Phase nicht immer nachzuweisen, so z. B. nicht in den Abb. 10f, i und m; diese Abbildungen suggerieren die schon vorhin besprochene Wurmform der Spermakerne, wenn man annimmt, daß die Kernmembran den Fäden eng anliegt und deshalb

nicht sichtbar ist. Diesen Fällen gegenüber stehen solche, die bei gleicher Fadendicke die Kernmembran deutlich zeigen (Abb. 10e und n); bei der Schwierigkeit des Nachweises kommt diesen größere Beweiskraft zu (vgl. auch die Abbildungen von GERASSIMOVA für *Crepis* 1933, Tafel I, Fig. 7 XXI bis XXXIII).

In diesem ersten Stadium der Strukturänderung sehe ich eine Normalisierung der durch den Eintritt in den Embryosack gestörten Spermakernstruktur. Dieses erste Stadium durchlaufen auch die Kerne der überzähligen Spermazellen, die vom zweiten Pollenschlauch entleert wurden (vgl. Abb. 6, Fig. 4 und Abb. 9, Fig. 3). Hierauf muß besonders im Hinblick auf die Kritik WYLIES (1923 und 1941) an NAWASHIN und FINN (1913) hingewiesen werden. Bis zu diesem Stadium ist kein Unterschied zwischen dem ersten und dem zweiten Spermazellpaar zu konstatieren.

Die zweite und wichtigste Veränderung jedoch erfolgt erst beim Kontakt der Spermakerne mit den weiblichen Kernen, wobei unter starker Größenzunahme (Abb. 10q und r) Verringerung der Nuklealität und schließlich Chromomerenstruktur auftritt, wie noch weiter ausgeführt wird.

Hinweisen möchte ich an dieser Stelle schon auf die Beobachtungen von MADGE an *Viola* (1929, 568), die bei Eisenhämatoxylinfärbung Ei- und sekundären Embryosackkern unfärbbar fand und den männlichen Kern im Kontakt mit den weiblichen sich fortschreitend schwächer färben sah und ihn schließlich nicht mehr nachweisen konnte. GERASSIMOVA (1933, 120) beobachtete ebenfalls ein Abnehmen der Hämatoxylinfärbbarkeit. Auch ich hatte Schwierigkeiten, die Kerne in den letzten Stadien mit Eisenhämatoxylin sichtbar zu machen, während dies mit der Nuklealreaktion ohne weiteres gelang. Änderung der Färbbarkeit beobachtete auch SMITH (1942, 663) bei *Camassia*.

Die Größenzunahme der Spermakerne im Embryosack scheint eine allgemeine Erscheinung zu sein [vgl. hierzu auch COOPERS Beobachtungen an *Phryma leptostachya* (1941, 759) und SWAMYS (1948b) an *Casuarina equisetifolia*]; bei *Impatiens glanduligera* ist sie recht erheblich, so wachsen die in den Embryosack entleerten 2 μ großen Spermakerne auf etwa 5 μ Größe kurz vor der Verschmelzung mit den weiblichen Kernen.

Die Größendifferenz der Spermazellen und Kerne ist bei *Impatiens glanduligera* recht gering, wie die Kernpaare der Abb. 10 f und g und 10h und i beweisen, jedoch sind die Kerne zuweilen in ihrer Struktur phasenverschieden. Mit GERASSIMOVA möchte ich Strukturdifferenzen der Kernpaare gering bewerten, da sowohl Größenzunahme wie Strukturänderung entwicklungsphysiologische Abläufe sind, die von den Kernen keineswegs synchron durchlaufen werden müssen. Auch das physiologische Verhalten der Spermazellen und Kerne bietet keinen Anhalt für eine Differenzierung, da es ganz gleich ist, welche Spermazelle zuerst in den Embryosack eintritt und welcher Kern zunächst zur Befruchtung kommt und mit welchem Kern er verschmilzt, außerdem beweisen die Fälle von Dispermie, wie schon HAGERUP (1944) betont, die physiologische Gleichheit.

Die stärkste Größenzunahme erfahren die Spermakerne im Kontakt mit den weiblichen Kernen, wie die Abb. 10q und r zeigen (vgl. auch Abb. 9, Fig. 2 und Abb. 11a und 12a), womit eine Streckung des Chromatinfadens verbunden ist. Ohne weitere Größenzunahme setzt dann eine Nuklealitätsverminderung ein, wie ein Vergleich der Abb. 10q und r beweist. In Abb. 10q und 12a (vgl. auch Abb. 9, Fig. 2, Spermakern am sekundären Embryosackkern) sind die Chromatinfäden noch gleichmäßig nukleal, während in den Abb. 10r und 11a (vgl. auch Abb. 9, Fig. 2, Spermakern am Eikern) bereits stärker reagierende Abschnitte sichtbar sind. Diese Verminderung des Thymonukleinsäuregehalts und Konzentration auf einzelne Abschnitte schreitet fort, so daß schließlich nur noch 9 nukleale Chromomeren sichtbar sind (z. B. Abb. 12b).

Ich möchte in diesem zweiten Prozeß eine Reifung der männlichen Kerne vor der Verschmelzung sehen. Es wurde nie ein anders strukturierter Kern beim Eindringen in den weiblichen Kern beobachtet. Daß dieser Vorgang nicht allein durch die Vergrößerung der Kerne im Sinne der Dispersionstheorie bedingt sein kann, scheinen mir außer den zitierten noch die Abb. 10o und p zu beweisen. Die mangelnde Größenzunahme der als Ausnahme gefundenen Kerne Abb. 10o und p vermag ich nicht zu erklären.

Die befruchtungsbereiten männlichen Kerne besitzen keinen Nukleolus.

Überzählige Spermakerne wurden nur in der Zweizahl bei *Impatiens glanduligera* gefunden (Abb. 6, Fig. 4 und Abb. 9, Fig. 3). Sie zeigen diesen Reifungsprozeß nicht, da sie mit den weiblichen Kernen nicht in Kontakt kommen. WYLIEs Hinweis (1923 und 1941) auf die Wichtigkeit der Untersuchung und Unterscheidung primärer und sekundärer Spermazellpaare ist also berechtigt.

Strukturänderungen der Spermakerne sind bereits häufiger beschrieben worden, so z. B. von SAX (1916, 512) bei *Fritillaria pudica*, wo mit der Formänderung der männlichen Kerne auch eine Änderung der Kernstruktur einherging (SAX, Fig. 14) und von MADGE (1929), wie bereits weiter oben zitiert. GERASSIMOVA (1933) war die erste, die beobachtete, daß die letzten Strukturänderungen erst im Kontakt mit den weiblichen Kernen erfolgen; auch HAGERUP (1944) sah Größen- und Strukturänderung.

Wollte man die bei *Impatiens glanduligera* und *Mathildae* beobachteten Spermakerne in den Typisierungsversuch von PODDUBNAJA-ARNOLDI und DIANOWA (1935) einreihen, so müßte man sie zu den runden rechnen.

Schaut man die Abb. 10 vergleichend an, so wird man aus der Form der Spermazellen niemals und aus der Form der Spermakerne kaum auf Eigenbeweglichkeit schließen können. Gerade die Abb. 10 beweist eindeutig, daß man bei solchen Betrachtungen nicht von Einzelformen wie Abb. 10c und d ausgehen darf, sondern einen großen Tatbestand vergleichend betrachten muß. (Die Abb. 10 stellt ja selber nur einen winzigen Ausschnitt aus dem gesamten Tatsachenmaterial dar.) Wollte man auf eine Eigenbeweglichkeit der Spermazellen schließen, so müßte man für sie eine tordierte Form erwarten. Selbst dann wäre ein Schluß von der

Form auf die Bewegungsart verfrüht. Auch GERASSIMOVA ist nach den Einwänden Prof. SLUTZKYS auf dem russischen Botanikerkongreß in Moskau 1931 zweifelhaft geworden, ob aus den von ihr an *Crepis capillaris* beobachteten Formänderungen der Kerne auf Eigenbeweglichkeit geschlossen werden kann.

Von größerer Wichtigkeit für die Frage der Eigenbewegung der Spermazellen sind ihre Lageveränderungen. Selbst wenn man eine rein passive Bewegung durch Plasmaströmung annehmen wollte, die ja bei den zwischen Eizelle und sekundärem Embryosackkern liegenden Spermazellen leicht und bei den eben aus der Synergide ausgetretenen schwerer denkbar wäre, muß man die Lageveränderungen der Spermazellen zueinander in Betracht ziehen. Die zunächst gepaart, jedoch nur ausnahmsweise in gemeinsamer Cytoplasmahülle liegenden Spermazellen entfernen sich, wie auch GERASSIMOVA festgestellt hat, voneinander und schlagen verschiedene Wege ein. Dies und die Tatsache, daß sich niemals der vegetative Kern oder auch gelegentlich ausgetretene Reste des Synergidenkernes zu den weiblichen Kernen hinbewegen (vgl. Abb. 9, Fig. 3 vegetativer Kern an oberem Endospermkern), lassen es berechtigt erscheinen, auf eine Eigenbeweglichkeit der Spermazellen zu schließen.

Mit dieser Argumentation hat bereits NAWASHIN (1909) die These von der Eigenbeweglichkeit der Spermakerne zu stützen versucht, ihr haben sich in der Folgezeit die meisten Bearbeiter, wie z. B. BLACKMAN und WELSFORD (1913), TSCHERNOJAROW (1926), FINN (1935) und WULFF und MAHESHWARI (1938) angeschlossen. WULFF (1934a) sieht die Frage nach der Beweglichkeit der Spermazellen in einem größeren Rahmen. Er meint, wenn man der generativen Zelle einmal Beweglichkeit zugesprochen habe, müsse man sie ihr auch während aller Lebensstadien im Pollenkorn und Schlauch und im Embryosack zubilligen.

In neuerer Zeit nimmt WYLIE (1941) für den zweiten Spermakern, der den sekundären Embryosackkern befruchtet, mit großer Wahrscheinlichkeit Bewegung durch Plasmaströmung an. Daß die Eigenbewegung der Spermazellen unter Umständen durch die Cytoplasmaströmung gefördert werden kann, steht außer Zweifel, wie auch SAX (1916, 518) betont.

Gegen die Cytoplasmaströmung spricht allerdings die Tatsache, daß die sekundären Spermazellen ihre Stellung nicht verändern, wie die Fig. 4 der Abb. 6 und die Fig. 3 der Abb. 9 beweisen. Nun muß aber erörtert werden, warum keine Lageveränderung erfolgt. [Auf die gleichlautende Beobachtung von WYLIE (1941) sei an dieser Stelle nur hingewiesen. Bei *Crepis* verhalten sich die überzähligen Spermakerne nach GERASSIMOVA verschieden, zum Teil verändern sie ihre Lage nicht, zum Teil wandern sie im Embryosack.] Eine Erklärung für diese Tatsache läßt sich zur Zeit nicht geben, es sei denn man folge der Ansicht von ELLENGORN und SVETOZAROVA (1949), wonach durch den Eintritt von Pollenschlauchplasma, das einen anderen IEP als das Embryosackplasma hat, der physikochemische Zustand im ES verschoben wird. Da aber

die kurze Mitteilung weder bebildert noch die Befunde durch Tabellen belegt sind, erscheint mir eine endgültige Stellungnahme verfrüht. — Wollte man besondere Attraktionskräfte der Sexualkerne annehmen, so müßten diese im Zustand der Befruchtung unwirksam werden und so eine Wanderung der zweiten Spermazellgruppe unterbleiben. Hiermit berühren wir ein Grundproblem der Sexualität. Schlüsse aus dem differenten Thymonukleinsäuregehalt der weiblichen und der wandernden männlichen Gametenkerne ziehen zu wollen wäre verfrüht; sicher ist, daß der Ladungszustand des weiblichen Sexualkernes durch Verminderung des Thymonukleinsäuregehaltes geändert wird. Daß die Attraktionskräfte der weiblichen Kerne über die Befruchtung hinaus wirksam sein können, beweisen die Fälle der Dispermie (Abb. 11d). Vielleicht ist die Anziehungskraft eines weiblichen Sexualkernes gestört, wenn es zur Dispermie beim anderen kommt, denn auch im Falle der Fig. 4 der Abb. 9 findet keine Wanderung der zweiten Spermazellgruppe statt, obwohl der sekundäre Embryosackkern noch nicht befruchtet ist.

Die beiden überzähligen Spermazellen (mehr wurden nie im Embryosack beobachtet) degenerieren und werden frühzeitig von dem sich entwickelnden Endosperm überdeckt.

Die Wanderung der Spermazellen scheint sehr schnell vor sich zu gehen, denn bei den vielen Hundert untersuchten Embryosäcken zeigten nur wenige die Zellen auf dem Wege zu den weiblichen Kernen. Diese Beobachtung stimmt mit denen von WYLIE (1941) an *Vallisneria*, von SMITH (1942) bei *Camassia* und von FAGERLIND (1946) bei *Rudbeckia* überein. Am häufigsten fanden sich Stadien wie die Fig. 1 und 2 der Abb. 9, also kurz nach der Entleerung und bereits im Kontakt mit den weiblichen Kernen. Daß die Eizelle als erste erreicht wird, ist nicht verwunderlich, wenn man an die Lage der entleerten Spermazellen denkt.

Unterschiede der Plasmaverteilung in der die Spermazelle aufnehmenden Seite der Eizelle und ihrer Gegenseite, wie WYLIE (1941) sie bei *Vallisneria* beobachtet haben will, oder Vorwölbung des Eikernes an der der Spermazelle zugekehrten Seite, wie HAGERUP (1944) sie bei *Orchis maculatus* sah, konnte ich nicht feststellen. Das Eindringen der Spermazellen konnte bei *Impatiens* an ganz verschiedener Stelle erfolgen, wenn auch der apikale Pol bevorzugt war. Die Lage der zweiten Spermazelle in der Abb. 8b beweist, daß auch ein Eindringen von dem basalen Teil her möglich ist.

Trotz aller Mühe konnte das Eindringen der Spermazellen in die Eizelle nicht gesehen werden, so daß auch hier die schwierige Frage des Lösens und Wiederschließens der Eizellmembran nicht geklärt werden konnte. HAGERUP (1944) stellt sich das Verschmelzen wie das Zusammenfließen zweier auf Wasser schwimmender Öltropfen vor, WYLIE (1941) wie das plötzliche Zusammenbrechen einer Berührungsmembran nackter

Protoplasten. WYLIE versucht so die Tatsache zu erklären, daß noch niemand das Eindringen beobachtet hat. Dieser Gedanke scheint mir bedeutsam, wenngleich ich auch betonen muß, daß der Eizelle, wenn schon keine Zellulosemembran, doch eine festere Membran als eine Protoplastenhaut eigen ist. Für WYLIEs Gedankengang scheint mir auch die Abbildung NAWASHINs und FINNs für *Juglans nigra* zu sprechen (1913, Tafel III, Fig. 26), wo die Berührungsmembran zwischen der Eizelle und der Spermazelle gelöst ist, womit also gleichzeitig eine Fusion der beiden Protoplasten eingeleitet wurde. Erfolgt die Zellverschmelzung nach diesem Modus, so dürfte es also niemals möglich sein, einen männlichen Gameten mit gesondertem männlichem Cytoplasma in der Eizelle wahrzunehmen.

Ungelöst bleibt aber die Frage des Eintritts von männlichen Gameten in die Eizelle, wenn es gelingt Spermazellen mit Eigenplasma in der Eizelle zu finden. Die beiden einzigen mir bekannten Fälle, wo eine Öffnung der Eizellmembran beobachtet wurde, scheinen mir sehr problematisch, und die Abbildungen vermögen mich nicht zu überzeugen (HEIMANS 1928, Abb. 15 und ANDERSON 1936, Fig. 23), besonders bei der Abbildung von HEIMANS möchte ich an ein beim Mikrotomschneiden erfolgtes Einreißen der Eizellmembran glauben.

Da die Eizellmembran in unserem Falle sehr dünn ist und nicht aus Zellulose besteht, Plasmodesmen nicht nachweisbar sind, bleibt wohl eine Frage nach dem Eintritt des männlichen Gameten in Art des Kerndurchtritts, wie er an abgezogenen Epidermen vielfach beobachtet wurde (z. B. MIEHE 1901, SCHWEIDLER 1910, LINSBAUER 1930, weitere Literaturangaben bei TISCHLER 1934, 327) recht problematisch. Immerhin wäre ein nichttraumatogener Zell- bzw. Kernübertritt beim Sexualvorgang ohne die eventuell bei abgezogenen Häuten eingetretene Rißbildung in der Membran diskutabel, wie bereits SCHWEIDLER (1910) auch im Hinblick auf die von ARNOLD gegebene Deutung der HOFMEISTERschen Körperchen in der Eizelle der Abietineen betont. Zu bedenken ist, daß die beobachteten traumatogenen Kernübertritte recht schnell erfolgen, so daß auch bei dieser Hypothese nur ein glücklicher Zufall zu einer Klärung führen könnte. Die notwendigen Voraussetzungen für diese Hypothese sind allerdings das Vorhandensein von Membranporen und eventuell starke Turgordifferenzen in den Zellen (vgl. SCHWEIDLER 1910).

Bei *Impatiens glanduligera* gelang es mir in wenigen Fällen den Spermakern mit seinem hellen „Nimbus" in der Eizelle nachzuweisen. Die Abb. 8b gibt dafür ein lehrreiches Beispiel: zwei Spermazellen sind in die Eizelle eingedrungen (von diesem seltenen Fall der Dispermie wird später noch die Rede sein). Der am basalen Teil der Eizelle befindliche Kern zeigt noch die hyaline Cytoplasmaschicht, während der zweite Kern bereits im Kontakt mit dem Eikern steht. Es wäre denkbar, daß das männliche Plasma dieser Spermazelle unter Verquellung mit dem weiblichen verschmolzen ist.

III. Plasmaverschmelzung. Die Tatsache, daß die Funde von männlichem Cytoplasma in der Eizelle so selten sind, beweist meines

Erachtens nur, daß der Angleichungsprozeß der beiden Cytoplasmen und ihre endgültige Verschmelzung sehr schnell vor sich gehen. Demnach kann also das Nichtauffinden von Spermazellen in der Eizelle einer bestimmten Pflanze nicht als Gegenbeweis gegen die Übertragung männlichen Plasmas gelten. Den seltenen Funden, wo diese Verschmelzung aus unbekannten Gründen eine Verzögerung erfahren hat, kommt also erhöhte Bedeutung zu. Ich hoffe, daß diesem ersten die Übertragung männlichen Plasmas cytologisch beweisenden Funde weitere folgen werden. An Versuchen und Hoffnungen hat es ja bisher nicht gefehlt (vgl. die Literatur bei MICHAELIS 1935 und 1949 — in den von MICHAELIS 1949, 181 zitierten beiden Fällen ist die Übertragung cytologisch nicht erwiesen —, KAIENBURG 1950 und WULFF und MAHESHWARI 1938).

Dem Einwand von SCHNARF (1941b), daß das männliche Cytoplasma sofort nach dem Eindringen in die Eizelle mit dem weiblichen verschmelze, habe ich mit TISCHLER entgegenzuhalten, daß auch im Pollenschlauch das männliche Plasma sich von dem Cytoplasma des Pollenschlauches als einem Plasma anderer Viskosität getrennt erhält. Erfassen wir das männliche Plasma kurz nach dem Eindringen, bevor der Viskositätsausgleich erfolgt ist, oder ist der Viskositätsausgleich gestört, so gelingt der Nachweis der plasmatischen Vererbung (vgl. Abb. 8b).

Es könnte an dieser Stelle eingewandt werden, daß das männliche Cytoplasma an einer für die Eizelle überzähligen Spermazelle in der Abb. 8b nachgewiesen wäre, und daß nach WYLIE (1941) überzählige Spermazellen ihre Plasmahaut länger behalten. Ich habe aber auch in wenigen Fällen die Cytoplasmahaut bei normaler, monospermischer Befruchtung in der Eizelle nachweisen können.

Nach dem hier Gesagten ist es nicht verwunderlich, wenn auch auf dem viel längeren Wege der zweiten Spermazelle zum sekundären Embryosackkern die Cytoplasmaschicht verschwindet. Ein Auswandern der Kerne aus ihrer Plasmahaut, wie es WYLIE (1941) bei *Vallisneria americana* gesehen haben will, konnte ich in keinem Fall beobachten. Ich nehme auch hier eine weitgehende Angleichung der Cytoplasmen auf dem Wanderwege an und erkläre so die Tatsache, daß verlassene Kernhöhlen bei *Impatiens glanduligera* nicht gefunden wurden.

Die verschmelzungsbereiten Kerne (Abb. 9, Fig. 2) waren immer nackt. Für die plasmatische Vererbung spielt der Zeitpunkt der Verschmelzung von Sperma- und Embryosackplasma keine Rolle, für die Tatsache der Verschmelzung ist es auch unwesentlich, ob nach WYLIE die Verschmelzung nach Verlassen des Spermazellraumes durch den Spermakern erfolgt, oder nach meiner Ansicht während der Wanderung der Spermazelle in allmählicher Angleichung der Cytoplasmen.

Wenn wir also sahen, daß das männliche Cytoplasma nach dem Eintritt in die Eizelle und auf dem Wege zum sekundären Embryosackkern sich mit dem weiblichen mischt, müssen wir für das letzte Wegstück zum Ei- bzw. sekundären Embryosackkern Eigenbewegung der Kerne

etwa im Sinne der Sekretionsmotilität VALKANOVs (1934), um nur eine Bewegungstheorie (vgl. auch MILOVIDOV 1949, 35 ff.) zu nennen, annehmen. Sonst müssen wir für den Spermakern in der Eizelle eine Bewegung durch eine zweite Cytoplasmaströmung, nämlich durch die der Eizelle, voraussetzen.

IV. Kernverschmelzung. Die Kernverschmelzung selbst wird eingeleitet durch Anlagerung der männlichen Kerne an die weiblichen. In dieser Lage durchlaufen sie den letzten, schon vorhin beschriebenen, eine gewisse Zeit dauernden Reifungsprozeß (Abb. 9, Fig. 2). Von welcher Seite sich die männlichen Kerne den weiblichen anlegen ist verschieden, wie die Abb. 11 und 12 beweisen (die weiblichen Kerne sind in jeder Abbildung gleichsinnig orientiert). Eine Lagebeziehung des männlichen Gameten zum Eikern-Nukleolus, wie es MADGE (1929) für *Viola* annimmt, konnte ich nie beobachten.

Die Verschmelzungsvorgänge sind bei beiden Kernen gleich, nur vollziehen sie sich beim sekundären Embryosackkern mit größerer Geschwindigkeit, so daß hier die Verschmelzung bereits vollendet ist, wenn man beim Eikern erst die frühen Stadien beobachtet, obwohl der Eikern zuerst erreicht wird. Soweit decken sich meine Beobachtungen mit denen von GERASSIMOVA (1933) und HOARE (1933).

Ich habe mich bemüht die Auflösung der Kernmembran zwischen beiden Kernen zu sehen, bin aber zu keinem eindeutigen Resultat gekommen. Ein aktives Einbohren des männlichen Gameten, wofür in letzter Zeit noch STEINDL (1935) bei *Viscum album* eintrat, und das auch OTTLEY (1918, 307) für *Impatiens Sultani* anzunehmen scheint, konnte ich nicht beobachten. Für ein Versinken des männlichen Kernes in den weiblichen, wie es auch GERASSIMOVA und HAGERUP annehmen, spricht ein Befund, den ich am sekundären Embryosackkern beobachtet habe (Abb. 12b). Der männliche Kern, durch seine Nuklealität vom anuklealen Chromatin des sekundären Embryosackkernes unterschieden. liegt von innen dessen Kernwandung an. Er kann also eben erst eingedrungen sein, worauf auch die beginnende Nukleolenbildung deutet.

In der Literatur finden sich einige Beobachtungen, die ebenfalls von einem deutlich abgegrenzten männlichen Kern im weiblichen sprechen, so BLISS (1912) für *Viola cucullata,* SAX (1918) für *Triticum durum,* OTTLEY (1918, Fig. 45; dieser Abbildung kommt jedoch sicher keine große Beweiskraft zu) für *Impatiens Sultani,* STENAR (1925) für *Malva parviflora,* ANDERSSON (1931) für *Apocynum cannabinum,* SATINA und BLAKESLEE (1935) für *Datura,* MAHONY (1935, Fig. 22 und 23) für *Fagopyrum* und SMITH (1942) für *Camassia.*

Beim Eikern konnte ich derartige Stadien nicht beobachten. Dies erklärt sich wahrscheinlich daraus, daß hier das Einsinken langsamer erfolgt und dabei die Berührungsmembranen gelöst werden. Verfolgen wir nun die Verschmelzung zwischen Ei- und männlichem Kern genauer

(Abb. 11), so sind wir gezwungen eine Auflösung der Berührungsmembranen anzunehmen, da ein langsames Auseinanderfließen des männlichen Kernes erfolgt und sich die durch die Verschmelzung entstandene Erhebung langsam der Rundung des weiblichen Kernes einfügt (Abb. 11b, d, e und f).

Mit dem Einebnen des männlichen Kernes geht die Bildung des männlichen Nukleolus parallel (Abb. 11c, f und g). Dieser nimmt an Größe zn

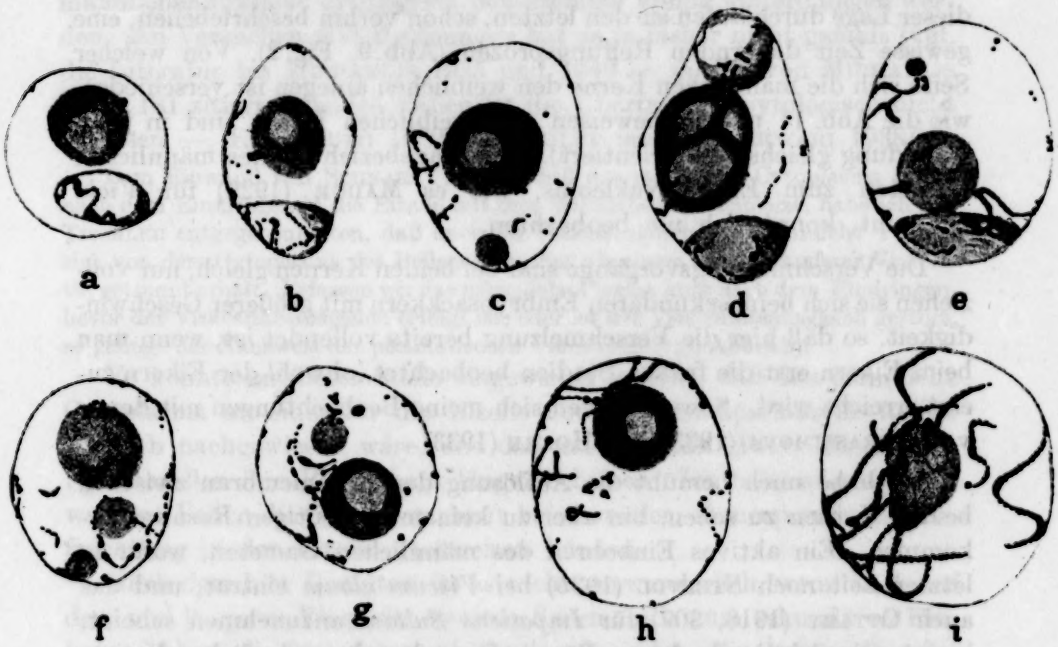


Abb. 11. Befruchtung der Eizelle von *Impatiens glanduligera*. Die Eikerne sind gleichsinnig orientiert (obere Seite = mikropylare Seite). FEULGENsche Nuklealreaktion. Vergrößerung 2100fach. a Spermakern liegt dem Eikern auf; b, d und e Berührungsmembran der Sexualkerne gelöst, jedoch männlicher Spermaraum noch nicht völlig eingeebnet. f, g, h und i Einebnung des männlichen Kernes vollendet; b—h fortschreitendes Nuklealwerden des Zygotenkernes; i Bildung der Prophase-Chromosomen, Zygotenkern tritt in Teilung ein; c, f, g und i Bildung, Wanderung und Verschmelzung des männlichen Nukleolus; d dispermische Befruchtung. Weitere Erklärung im Text.

(Abb. 11c, f und g), wobei er zuweilen Vakuolen ausbildet (vgl. dazu auch Abb. 12b), und wandert zum großen Nukleolus des Eikernes (Abb. 11g), mit dem er sehr schnell verschmilzt. Daß diese Verschmelzung zuweilen verzögert sein kann, beweist die Abb. 11i, wo sie erst in dem sich zur Teilung anschickenden Zygotenkern stattfindet.

Der männliche Kern ist wegen seiner stärkeren Nuklealität zunächst auch nach der Einebnung noch deutlich abgegrenzt (vgl. auch Abb. 12c). Mit dem Auflösen der Berührungsmembran werden auch die Chromomeren des reifen Eikernes wieder nukleal (vgl. Abb. 11a und 11b—h). Es werden dieselben Stadien wie bei der Eireifung (Abb. 3) nur diesmal rückwärts durchlaufen. Statt der zwei nuklealen Chromomeren des reifen,

aber unbefruchteten Eikernes beobachtet man jetzt wieder deren neun. Dann tritt in jedem Chromosom die Thymonukleinsäure in den bisher anuklealen Nachbarchromomeren dieser nuklealen Chromomeren auf (Abb. 11b oben, 11d auf dem Nukleolus, 11f oben). Es entsteht so ein Faden aus nuklealen Chromomeren und anuklealen Fibrillen (Abb. 11b links, 11d rechts, 11f rechts) mit Orten stärkerer Kondensation an den Winkelpunkten (Abb. 11c links, 11g links). Oft werden auf diesem Wege die Chromocentren rückgebildet mit deutlich sichtbarer anuklealer Kommissur (Abb. 11d links, 11f Mitte). Von diesen Chromocentren ausgehend tritt dann die Struktur der Prophase-Chromosomen auf, die sich in Abb. 11i noch nicht als Einzelchromosomen analysieren lassen. Dieses Stadium wird sehr schnell durchlaufen, worauf die Mitose des Zygotenkernes erfolgt.

Die Regeneration der Thymonukleinsäure erfolgt nicht überall mit gleicher Geschwindigkeit, so daß der Zygotenkern alle Stadien nebeneinander zeigt. Es kann dabei auch das Chromocentrenstadium ausfallen und gleich die Bildung Prophase-ähnlicher Strukturen erfolgen (Abb. 11c links und 11e links).

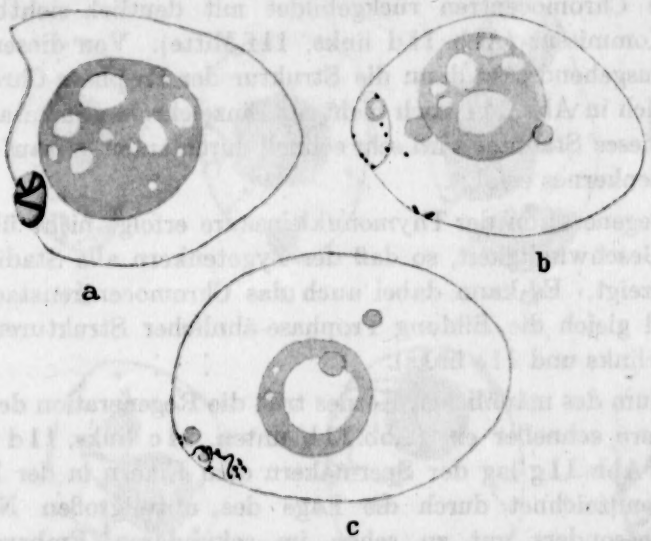
Im Raum des männlichen Kernes tritt die Regeneration der Thymonukleinsäure schneller ein (Abb. 11b unten, 11c links, 11d oben und unten; in Abb. 11g lag der Spermakern dem Eikern in der Mitte auf, noch gekennzeichnet durch die Lage des mittelgroßen Nukleolus). Dies ist besonders gut zu sehen im sekundären Embryosackkern (Abb. 12c).

Diese Tatsache erklärt meines Erachtens, abgesehen von verschiedener Kernstruktur der Sexualkerne, die färberische Abgrenzung des männlichen Kernes als dunklere Sphäre (vgl. Schnarf 1941b, 211) in zahlreichen Abbildungen der Literatur, z. B. bei Sax (1916, 512, Fig. 15 und 16 und 1918, 316, Fig. 15 und 16), Nothnagel (1918, Fig. 1 und 2), Tschernojarow (1926, 202, Fig. 10), West (1930, Fig. 28 und 29), Hoare (1933, 275—277, Fig. 19—25), Dahlgren (1934b, Abb. 29), Poddubnaja-Arnoldi und Dianowa (1935, Abb. 10), Mahony (1935, Fig. 22), Rutishauser (1935, 407, Abb. 10b), Wylie (1941, Fig. 6), Smith (1942, Fig. 27 und 30), Cooper (1936, Fig. 9; 1940, Fig. 17; 1941, Fig. 16, 17, 18, 20; 1943, Fig. 6, 12, 17 und 1946, Fig. 2, 5, 6 und 8), Hagerup (1944, Fig. 32, 33), Swamy (1948a, Fig. 4) und Fagerlind (1946, Abb. 5b). Diese Liste ließe sich beliebig verlängern, wenn man die Fälle verschiedener Färbbarkeit beim Kontakt der Sexualkerne einschließt. Besonders hinweisen möchte ich auf die von Shibata (1902) bei *Monotropa uniflora* an lebendem Material beobachtete stärkere Lichtbrechung der männlichen Kerne.

Die Ruheperiode der Zygote bis zur ersten Teilung wird durch die notwendige Regeneration der Thymonukleinsäure verständlich. Es ist denkbar, daß der Anstoß zu der Neubildung der Thymonukleinsäure durch den Spermakern und die damit verbundene Thymonukleinsäurezufuhr erfolgt. Hinweisen möchte ich hier auf die Gedankengänge von E. Zacharias, der bereits 1901 zu der Ansicht kam, daß die männlichen

Kerne einen von ihm „Nuclein" genannten Stoff in die weiblichen, stoffärmeren übertragen und so das für die Kernteilung günstige Verhältnis herstellen.

Unbefruchtet gebliebene und auch hypertrophierte Ei- (vgl. dazu die Abb. 3h) und sekundäre Embryosackkerne blieben stets oligo- bzw. anukleal. Die Regeneration der Thymonukleinsäure geht im sekundären Endospermkern schneller vor sich (vgl. Abb. 12b rechts vom Spermakern)



Abbb. 12a—c. Befruchtung des sekundären Embryosackkernes von *Impatiens glanduligera*. Die sekundären Embryosackkerne sind gleichsinnig orientiert (linke Seite = mikropylare Seite). FEULGENsche Nuklealreaktion. Vergrößerung 1400fach. a Spermakern liegt dem sekundären Embryosackkern auf. b Spermakern ist eingesunken. Kernmembran noch sichtbar, Chromomerenstruktur deutlich. Nukleolus in Bildung begriffen. Im sekundären Embryosackkern beginnt (unten links) die Regeneration der Thymonukleinsäure. c Spermakernwand aufgelöst. Regeneration der Thymonukleinsäure im Spermakernraum beginnend.

als in dem einkernigen Embryo, so daß sich die frühere Teilung dieses Kernes erklärt.

Die ersten Teilungskerne sind bereits deutlich nukleal, wobei die Kerne des Embryos wahrscheinlich ihrer geringeren Größe wegen sich mit der Nuklealreaktion intensiver färben, als die recht großen des Endosperms. Soweit hat sicher die Dispersionstheorie, wie sie von SCHNARF (1941b) vertreten wird, ihre Berechtigung, aber sie kann nicht das schrittweise An- und Abklingen der Nuklealität erklären. Das genaue Studium gerade dieser schrittweisen Verminderung der Nuklealität im zweiten Teil dieser Arbeit hat deutlich gezeigt, daß der Verminderung der Nuklealität keine Größenzunahme des Kernes parallel geht. Im zygotischen Kern aber tritt bei starker Größenzunahme (vgl. Abb. 11a und 11i), wie vorstehend gezeigt wurde, Vermehrung der Thymonukleinsäure ein, während nach SCHNARF und MILOVIDOV eine Verminderung und eine geringere Feulgen-Reaktion zu erwarten wäre.

Bei *Impatiens Mathildae* ist der Befruchtungsvorgang in allen Teilschritten der gleiche; vor Verallgemeinerung möchte ich jedoch warnen.

Ein weiteres Problem ist die Frage nach der Durchmischung der beiden Sexualkerne. Bei *Impatiens glanduligera* und *Mathildae* gehen die zunächst gegeneinander abgegrenzten Sphären im Laufe der Verschmelzung verloren; weder durch Färbung noch durch Feulgen-Reaktion sind sie nachweisbar. Einen gewissen Aufschluß konnte man aus der Verteilung der nuklealen Rest-Chromomeren erhoffen. Da aber von den Chromomeren des männlichen Kernes ausgehend sich die Nuklealität auf das schwach sichtbare Gerüst des Kernes verschieden schnell ausdehnt, also in dem einen Teil bereits das fädige Stadium vorherrscht, während in dem anderen noch die nuklealen Rest-Chromomeren deutlich sind, ist ein sicherer Schluß schwer möglich (vgl. Abb. 11 c, e, f und g), wenn man nicht die Lage des männlichen Kernes von der stärkeren Nuklealität der Fäden ablesen will. Erst die Lagerung der Prophase-Chromosomen ermöglicht es wieder, den sicheren Schluß zu ziehen, daß eine Durchmischung nicht stattfindet (Abb. 11 i, der Spermakern ist von unten her mit dem Eikern verschmolzen).

Die zweite Möglichkeit besteht in einem genauen Studium der ersten Teilungsschritte der zygotischen Kerne, wie sie z. B. Sax (1918) bei *Fritillaria pudica* und *Triticum durum hordeiforme Hort. var. Kubanka*, Weniger (1918) bei *Lilium* und Nothnagel (1918) bei *Lilium* und *Trillium* durchgeführt haben. Im Falle von *Impatiens glanduligera* konnte ich aber bei der Teilung des befruchteten Eikernes keine Chromosomengruppierungen oder gar getrennte Spindeln, wie sie z. B. Cooper (1940, Fig. 18 und 19) bei *Portulaca oleracea* sah, feststellen, während ich bei der Teilung des sekundären Endospermkernes einmal drei differente Chromosomengruppen sah, von denen eine stärker nukleal war; ein Befund, der denen von Sax (1918) an *Triticum hordeiforme*, Nothnagel (1918) an *Trillium grandiflorum* und *Lilium Martagon* und Madge (1929) an *Viola odorata* vergleichbar ist. Doch was bei *Triticum* Regel scheint, ist bei *Impatiens* Ausnahme. Aus diesem Einzelfall jedoch allgemein schließen zu wollen, daß eine Chromosomengruppierung, wie sie auch Hoare (1933) bei *Scilla nonscripta* annimmt, stattfindet, wäre übereilt. Im Embryosack kommen so viele pathologische Veränderungen vor, daß man auch in diesem Fall eine Abnormität annehmen kann, bei der die Chromosomengruppen gesondert erhalten geblieben sind. Besondere Vorsicht ist bei Behandlung dieses Problems am Platze, da neuerdings Huskins und Cheng (1950) gezeigt haben, daß Kälteeinwirkung (sonst auch spontan auftretende) Chromosomengruppierung in erhöhtem Maße induzieren kann.

Abschließend wäre zu sagen: Bei *Impatiens* findet sicherlich bei der Befruchtung keine völlige Durchmischung der Sexualkerne statt; jedoch

tritt weder bei der ersten, noch bei späteren Teilungen Sonderung der Chromosomen in weibliche und männliche Gruppen ein.

Bei der Vereinigung der Sexualkerne fand niemals ein Einschluß von Cytoplasma statt, wie er so häufig bei der somatischen Kernvereinigung der beiden Polkerne gesehen wurde. Es möge an dieser Stelle noch einmal darauf hingewiesen sein, wie notwendig gerade das genaue Studium dieses Einschlusses für die richtige Deutung des Sexualvorganges war, da nur so Fehldeutungen vermieden werden konnten.

Von allgemeinem Interesse ist die Frage, ob es sichere Indizien der Befruchtung gibt. Hier muß ich gleich anfangs bemerken, daß nur die genaue entwicklungsgeschichtliche Untersuchung ein Urteil über die erfolgte Befruchtung abgeben kann. Das Vorkommen überzähliger Nukleolen in den befruchteten Kernen, das oft als Zeichen der Befruchtung genommen wird, ist kein sicherer Beweis, da

1. eine Verschmelzung der Nukleolen im Zygotenkern erfolgt und

2. die Zahl der Nukleolen vor der Befruchtung, besonders im sekundären Embryosackkern von *Impatiens glanduligera*, sehr variabel ist, wie ich bereits früher ausführte. Ich muß hier also DAHLGREN (1927), NOTHNAGEL (1918, 157) und HOARE (1933, 276) zustimmen, daß man die Nukleolenzahl nur mit Vorbehalt als Zeichen der Befruchtung nehmen kann; eher noch die Reste des im Embryosack beobachteten Pollenschlauches.

Für *Impatiens glanduligera* ist das Auftreten von mehr als 9 Feulgen-positiven Rest-Chromomeren ein sicherer Beweis für die Befruchtung.

Die Ausbauchung des Embryosackes in Höhe des sekundären Endospermkernes, die im Laufe der Embryo- und Endospermentwicklung immer deutlicher wird, wird eingeleitet durch das Kollabieren der kleinen, nicht verdickten Zellen unterhalb des Endothels. Diese Erscheinung ist aber kein sicheres Zeichen für die ausgeführte Befruchtung, obwohl sie immer im Gefolge der Befruchtung beobachtet wird, denn auch in hypertrophierten, unbefruchteten Embryosäcken tritt diese Erscheinung auf, wenn ein Pollenschlauch in die Mikropyle eingedrungen war. Man könnte bei dieser Beobachtung an eine Reizwirkung durch den Pollenschlauch denken.

Anhangsweise sollen nun noch besprochen werden:

5. Abnorme Befruchtungserscheinungen.

In seltenen Fällen können sich, wie ich bereits an anderer Stelle mitteilte (STEFFEN 1948b), aus einem zweizelligen Archespor zwei vollständige Embryosäcke entwickeln, die nach Auflösung der trennenden Wand in einem gemeinsamen Raum liegen. Leider wurden niemals Befruchtungsstadien gesehen, was bei der Seltenheit der Erscheinung nicht verwunderlich ist.

Das Eindringen zweier Pollenschläuche, die die beiden Synergiden zerstören, wurde bereits als regelmäßige Erscheinung beschrieben. Darüber hinaus können zwei weitere Pollenschläuche eindringen, die sich aber nicht zu öffnen vermögen. Die Zahl der überzähligen Spermazellen beträgt also maximal zwei.

Es bliebe schließlich zu prüfen, ob die überzähligen Spermazellen auch die Fähigkeit zum Verschmelzen haben. GERASSIMOVA (1933) erschließt in einem Fall aus dem Vorkommen zweier überzähliger Nukleolen und im anderen Fall aus der Nichtentwicklung des Endosperms Dispermie. In der Literatur finden sich Angaben über Dispermie, z. B. bei *Oenothera* (STRASBURGER 1884 und ISHIKAWA 1918), *Iris sibirica* (DODEL 1891) und *Gagea lutea* (NĚMEC 1912). Bei *Orchis maculatus* wird der Nachweis der Dispermie durch HAGERUP (1944) überaus sorgfältig geführt.

Ich selber verweise als Beweis für die Dispermie bei *Impatiens* auf die Fig. 4 der Abb. 9, auf Abb. 8b und 11d. Die Fig. 8b und die Fig. 4 der Abb. 9 ermöglichen nur einen indirekten Beweis.

In der Abb. 8b sind zwei Spermazellen in die Eizelle eingedrungen, und zwar die Spermazellen desselben Pollenschlauches, da nur eine Synergide zerstört ist. Die dem Eikern anliegende hat bereits ihr Cytoplasma auf dem Wege dorthin verloren, während die zweite noch deutlich den Cytoplasmasaum zeigt. Mit diesem Bilde ist zwar eine Dispermie wahrscheinlich gemacht, jedoch noch nicht bewiesen, da noch nicht gesichert ist, daß die beiden männlichen Kerne mit dem Eikern verschmelzen. Hierzu passen SCHÜRHOFFs (1931) Abb. 5 der Tafel XV und sein Mikrophotogramm: Abb. 15 der Tafel XIV.

Die eigentliche Verschmelzung zweier Spermakerne mit dem Eikern zeigt die Abb. 11d. Die Einebnung der beidseitig anliegenden Spermakerne ist noch nicht erfolgt. Die Berührungsmembran ist zwar schon gelöst, aber die Sperma-Nukleoli sind noch nicht gebildet. Die Zahl der Rest-Chromomeren und nuklealen Fadenstücke ist größer als $2n = 18$ und somit die Dispermie bewiesen.

Als drittes Beweisstück führe ich die Fig. 4 der Abb. 9 an, wo der Pro-Embryo bereits zweizellig ist, der sekundäre Embryosackkern sich aber nicht geteilt hat, da augenscheinlich die Befruchtung unterblieben ist. Die entleerte zweite Spermazellgruppe beweist bei dieser Annahme, daß die beiden primären Spermazellen die disperme Befruchtung herbeigeführt haben. Auch SCHÜRHOFF (1931) kommt bei der Deutung eines ähnlichen Bildes zum gleichen Schluß für *Impatiens parviflora*.

Bei *Impatiens glanduligera* trat in einer Häufigkeit von 0,3% Dispermie auf. Damit wurde die Möglichkeit der Entstehung triploider Rassen aufgezeigt. Befruchtung und Dispermie durch sekundäre Spermazellen wurden nicht gesehen.

Synergidenbefruchtung oder Adventivembryonie wurde in keinem Fall gefunden. Die cytologische Untersuchung ergab bei den Embryonen stets die diploide Zahl von $2n = 18$. Embryonen mit haploider Chromosomenzahl, wie sie in neuester Zeit COOPER (1943, vgl. auch MAHESHWARI 1945 und MENDES 1944) als 1% Ausnahme neben normal diploiden bei 7 *Lilium*-Arten und einem Bastard *Nicotiana glutinosa/tabacum* sah und als apomiktische Synergiden-Embryonen deutete, habe

ich trotz eines großen Tatsachenmaterials nicht beobachtet. Fälle von Parthenogenesis und Pseudogamie, wie sie in letzter Zeit HAGERUP bei *Orchis maculatus* (1944) beschrieben hat, ließen sich nicht feststellen. Hemigamie, wie von BATTAGLIA (1946, 1947a und b) neuerdings beschrieben, wurde nicht beobachtet.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

DAHLGRENs Angaben über Embryosack- und Endospermentwicklung bei *Impatiens glanduligera* werden bestätigt und ergänzt (Anordnung der 4 Makrosporen in Tetradenlage, sukzedane Zellbildung im Embryosack und späte Vakuolenbildung im 8kernigen Embryosack). Die Membran der Eizelle (birnförmig: Typ III nach SOUÈGES) gibt keine Zellulosereaktion, während die Wand der Synergide (lang: Typ III nach SCHNARF) und ihr Fadenapparat aus Zellulose bestehen. Die Feinstruktur des Fadenapparates wird durch ± umgewandelte Cytoplasmafäden hervorgerufen.

Die Kerne der Synergiden und der bald degenerierenden Antipoden reagieren auch im reifen Embryosack nukleal, während die Polkerne ihre Nuklealität völlig und der Eikern bis auf einen Rest von 2 Chromomeren verlieren. Die Strukturänderung des Eikernes erfolgt in 2 Phasen: 1. Kernwachstumsphase mit Auflockerung der Chromocentren und 2. Nuklealitätswechsel (ohne weitere Kernvergrößerung!) mit zunächst auftretenden 9 nuklealen (Doppel-?)Chromomeren, die ihre Nuklealität bis auf 2 verlieren.

Als Voraussetzung für die richtige Deutung des Befruchtungsvorganges wird 1. die Entstehung von Kernvakuolen im sekundären Embryosackkern durch Entmischung des bei der somatischen (längst vor Eintreffen des Pollenschlauches erfolgenden) Verschmelzung der Polkerne eingeschlossenen Plasmas erklärt und wird 2. festgestellt, daß die Zahl der Nukleolen nicht als Kriterium für die Befruchtung genommen werden kann, da im Ei- und Polkern die Primärzahl von 1 großen und 1 kleinen Nukleolus vermehrt werden kann. Im sekundären Embryosackkern wurden maximal 7 kleine Nukleolen beobachtet. Verminderung der Nukleolenzahl durch Verschmelzung der beiden großen Nukleolen im sekundären Embryosackkern. Entmischungsvorgänge im Nukleolus führen zu sichtbarer Vakuolisation, Entleerung der Vakuolen in den Kernraum und Einschluß von Chromatin beim Wiederschließen der Vakuole.

Zuleitung der Pollenschläuche zu den Ovula erfolgt ektotrop auf kontinuierlicher Schleimbahn (subkutikularer Membranschleim) wahrscheinlich rein mechanisch. Zytologische Befunde und Verhalten der Pollenschläuche sprechen nicht für Anlockungsfunktion der anatomisch und physiologisch gleichwertigen Synergiden, jedoch scheinen sie Eintritt und Öffnen des Pollenschlauches zu bewirken (sind beide Syner-

giden durch Pollenschläuche zerstört, so wachsen die folgenden Pollenschläuche ohne Öffnung in den Embryosack).

Das Plasma der Spermazellen wird bereits im Pollenschlauch hyalin, der vegetative Kern kann fragmentiert werden. Kernstrukturänderung der nach Passage einer Synergide in den Zwischenraum zwischen Eizelle und sekundärem Embryosackkern entleerten, anatomisch und physiologisch gleichwertigen Spermazellen erfolgt in 2 Phasen: 1. Normalisierung der durch den Schock des Ergusses verursachten Kernstruktur, wobei ein gewundener nuklealer Chromatinfaden sichtbar wird, und 2. Größenzunahme im Kontakt mit den weiblichen Sexualkernen und danach folgende Verminderung der Nuklealität auf 9 nukleale Chromomeren. Sekundäre Spermazellen machen weder Lage- noch diese 2. Strukturänderung mit. Die Lageveränderung der primären Spermazellen erfolgt wahrscheinlich aktiv. Die Übertragung männlichen Cytoplasmas in die Eizelle wird nachgewiesen. Bei der Verschmelzung der Sexualkerne findet keine völlige Durchmischung statt, jedoch treten bei der ersten Teilung keine gesonderten Chromosomengruppen auf. Der Spermakern bildet erst nach Verschmelzung einen Nukleolus aus. Die Regeneration der Thymonukleinsäure erfolgt auf umgekehrtem Wege wie beim Reifungsprozeß der weiblichen Sexualkerne. In 0,3% aller Fälle wurde Dispermie gefunden.

Plastiden und Chondriosomen lassen sich im Embryosack gesondert nachweisen.

Literatur.

ANDERSON, L. E.: Mitochondria in the life cycles of certain higher plants. Amer. J. Bot. **23**, 490 (1936). — ANDERSSON, A.: Studien über die Embryologie der Familien *Celastraceae, Oleaceae* und *Apocynaceae*. Lunds Univ. Arsskr. **27**, 7 (1931). — ANDREWS, F. M.: Die Wirkung der Zentrifugalkraft auf Pflanzen. Jb. Bot. **56**, 221 (1915). — The embryo sac and pollen of *Epigaea repens*. Beih. Bot. Cbl. **44**, 264 (1927). — BACCHI, O.: Cytological observations in *Citrus*. III. Megasporogenesis, fertilization and polyembryony. Bot. Gaz. **105**, 221 (1943). — BATTAGLIA, E.: Ricerche cariologiche e embriologiche sul genere *Rudbeckia (Asteraceae)*. VIII. Semigamia in *Rudbeckia laciniata* L. Nuovo Giorn. Bot. Ital. **53**, 483 (1946). — IX. Semigamia in *Rudbeckia speciosa* RENDER. Nuovo Giorn. Bot. Ital. **54**, 530 (1947a). — La „semigamia" singolare comportamento del nucleo spermatico nelle uova diploidi delle specie apomittiche del genere *Rudbeckia (Asteraceae)* e conseguente embriogenesi di tipo chimerico. Atti Accad. Lincei (Roma) Rend. Cl. Sci. Fis. Mat. Nat., Ser. 8A **2**, 63 (1947b). — BAUER, H.: Die FEULGENsche Nuklealfärbung in ihrer Anwendung auf cytologische Untersuchungen. Z. Zellforschg **15**, 225 (1932). — Mikroskopisch chemischer Nachweis von Glykogen und einigen anderen Polysacchariden. Z. mikrosk.-anat. Forschg **33**, 143 (1933). — BAUM, H.: Ontogenetische Betrachtungen an einkarpelligen Griffeln und Griffelenden. Österr. bot. Z. **95**, 362 (1948). — BLACKMAN, V. H., and E. J. WELSFORD: Fertilization in *Lilium*. Ann. of Bot. **27**, 111 (1913). — BLISS, M. C.: A contribution to the life history of *Viola*. Ann. of Bot. **26**, 155 (1912). — BOLLE, L., u. J. STRAUB: Die Paarungskräfte im Hetero- und Euchromatin von tetraploider *Impatiens Balsamina*. Planta (Berl.) **32**, 489 (1942). — CAPPELLETTI, C.: Processi degenerativi negli ovuli in

seguito ad impedita fecondazione. Nuovo Giorn. Bot. Ital. **34**, 409 (1927). — CARROLL, F. B.: The development of the chasmogamous and the cleistogamous flowers of *Impatiens fulva*. Contr. Bot. Lab. Univ. Pennsylvania **4**, 144 (1919). — CONSTANTINESCU, D.: Sur l'évolution du chondriome du sac embryonnaire de *Digitalis purpurea* L. C. Acad. Sci. Paris **216**, 206 (1943). — COOK, M. T.: Notes on the embryo sac of *Passiflora adenophylla*. Bull. Torrey bot. Club **36** (1909). — COOPER, D. C.: Macrosporogenesis and development of the embryo sac of *Lilium Henryi*. Bot. Gaz. **97**, 346 (1935). — Development of the male gametes of *Lilium*. Bot. Gaz. **98**, 169 (1936). — Macrosporogenesis and embryo-sac development in *Euchlaena mexicana* and *Zea Mays*. J. agricult. Res. **55**, 539 (1937). — Development of megagametophyte in *Erythronium albidum*. Bot. Gaz. **100**, 862 (1939). — Macrosporogenesis and embryology of *Portulaca oleracea*. Amer. J. Bot. **27**, 326 (1940). — Macrosporogenesis and the development of the seed of *Phryma leptostachya*. Amer. J. Bot. **28**, 755 (1941). — Haploid-diploid twin embryos in *Lilium* and *Nicotiana*. Amer. J. Bot. **30**, 408 (1943). — Double fertilization in *Petunia*. Amer. J. Bot. **33**, 54 (1946). — COOPER, D. C., and R. A. BRINK: Somatoplastic sterility as a cause of seed failure after interspecific hybridization. Genetics **25**, 593 (1940). — LA COUR, L. F.: Nuclear differentiation in the pollen grain. Heredity **3**, 319 (1949). — DAHLGREN, K. V. O.: Cytologische und embryologische Studien über die Reihen *Primulales* und *Plumbaginales*. Kungl. svenska Vetenskapsakad. Handl. **56**, 4 (1916). — Diss. Uppsala 1916. — Die Befruchtungserscheinungen der Angiospermen. Eine monographische Übersicht. Hereditas (Lund) **10**, 169 (1927a). — Die Morphologie des Nucellus mit besonderer Berücksichtigung der deckzellosen Typen. Jb. Bot. **67**, 347 (1927b). — Über das Vorkommen von Stärke in den Embryosäcken der Angiospermen. Ber. dtsch. bot. Ges. **45**, 374 (1927c). — Hakenförmige Leistenbildungen bei Synergiden. Ber. dtsch. bot. Ges. **46**, 434 (1928). — Embryologien hos *Impatiens Roylei*. Vortrag gehalten bei Sitzung in Botaniska sektionen av Naturvetenskapliga Studentsällskapet i Uppsala den 9. Mai 1933. Sv. bot. Tidskr. **27**, 289 (1933). — Die Embryologie von *Impatiens Roylei*. Sv. bot. Tidskr. **28**, 103 (1934a). — Die Embryosackentwicklung von *Echinodorus macrophyllus* und *Sagittaria sagittifolia*. Planta (Berl.) **21**, 602 (1934b). — Hakenbildungen bei den Synergiden. Sv. bot. Tidskr. **32**, 221 (1938). — Sur la présence d'amidon dans le sac embryonaire chez les angiospermes. Bot. Notiser **1939**, 221. — *Impatiens*-arter idealobjekt för demonstration av pollenslangar. Medlemsblad för biologilärarnas förening **1941**. — DODEL, A.: Beiträge zur Kenntnis der Befruchtungserscheinungen bei *Iris sibirica*. Festschr. für NÄGELI u. KÖLLIKER. Zürich 1891. — DOUTRELIGNE, J.: Chromosomes et nucléoles dans les noyaux du type euchromocentrique. Cellule **42**, 29 (1933). — Over het belang van FEULGENS nucleale reactie bij het kleuven der kernen. Natuurwetensch. Tijdschr. **24**, 157 (1942). — EHRENBERG, L.: Influence of temperature on the nucleolus and its coacervate nature. Hereditas (Lund) **32**, 407 (1946). — ELFVING, F.: Studien über die Pollenkörner der Angiospermen. Jena. Z. Naturwiss. **13**, 1 (1879). — ELLENGORN, J. E., u. V. V. SVETOZAROVA: Neues in der Erforschung der Befruchtung bei Pflanzen. Dokl. Akad. Nauk. (russ.) **67**, 745 (1949). — ELY, J. O., and M. H. ROSS: Nucleic acids and the FEULGEN reaktion. Anat. Rec. **104**, 103 (1949). — FAGERLIND, F.: Die Embryologie von *Putoria*. Sv. bot. Tidskr. **30**, 362 (1936). — Vorkommen und Entstehung von Hakenleisten an Synergiden und Eizellen. Sv. bot. Tidskr. **37**, 339 (1943). — Sporogenesis, Embryosackentwicklung und pseudogame Samenbildung bei *Rudbeckia laciniata*. Acta Horti Bergiani **14**, 39 (1946). — FEULGEN, R.: Die Nuclealfärbung. In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. V, Teil 2, 1. Hälfte, S. 1055—1073. 1926. — FINN, W. W.: Streitfragen in der Entwicklung des männlichen Gametophyten der Angiospermen. Bull. sci. Univ. Etat Kiev, Recueil biologique **1935**, Nr 1, 25—47. — GEITLER, L.: Grundriß der Cytologie. Berlin 1934. —

Chromosomenbau. Protoplasmamonographien, Bd. 14. Berlin 1938. — Über die Struktur des generativen Kerns im zweikernigen Angiospermenpollen. Planta **32**, 187 (1941/42). — GERASSIMOVA, H.: Fertilization in *Crepis capillaris*. Cellule **42**, 103 (1933). — GERSCH, M.: Untersuchungen über die Bedeutung der Nukleolen im Zellkern. Z. Zellforschg Abt. A **30**, 483 (1940). — GOODSPEED, T. H.: Maturation of the gametes and fertilization in *Nicotiana*. Madroño **9**, 110 (1947). — GREGOIRE, V.: Euchromocentres et chromosomes dans les vegetaux. Bull. Acad. Méd. Belg. V. s. **17** (1931). — GUIGNARD, L.: La double fecondation chez les solanes. J. de Bot. **16**, 145 (1902). — HABERLANDT, G.: Die Lage des Zellkerns in der Eizelle der Angiospermen und ihre physiologische Bedeutung. Sitzgsber. preuß. Akad. Wiss., Physik.-math. Kl. **24**, 450 (1928). — HABERMANN, A.: Der Fadenapparat in den Synergiden der Angiospermen. Beih. Bot. Cbl. **20**, 300 (1906). — HAGERUP, O.: On fertilisation, polyploidy and haploidy in *Orchis maculatus L. sens. lat.* Dansk Bot. Arkiv **11**, 1 (1944). — HÅKANSSON: Die Entwicklung des Embryosacks und die Befruchtung von *Poa alpina*. Hereditas (Lund) **29**, 25 (1943). — Some observations on the seed development in *Ecudorian cacao*. Hereditas (Lund) **33**, 526 (1947). — HANF, M.: Vergleichende und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über Morphologie und Anatomie der Griffel und Griffeläste. Beih. Bot. Cbl. **54A**, 99 (1936). — HEIMANS, J.: Chromosomen und Befruchtung bei *Lilium Martagon*. Rec. Trav. bot. néerl. **25a**, 138 (1928). — HEITZ, E.: Heterochromatin, Chromocentren, Chromomeren. Ber. dtsch. bot. Ges. **47**, 274 (1929). — Die Herkunft der Chromocentren. Planta (Berl.) **18**, 571 (1933). — HEITZ, E., u. H. BAUER: Beweise für die Chromosomennatur der Kernschleifen in den Knäuelkernen von *Bibio hortulanus* L. (Cytologische Untersuchungen an *Dipteren I*). Z. Zellforschg **17**, 67 (1933). HEITZ, E., u. F. RESENDE: Zur Methode der Pollenkorn- und Pollenschlauchuntersuchung. Bol. Soc. Broteriana **11**, 5 (1936). — HOARE, G. V.: Gametogenesis and fertilization in *Scilla nonscripta*. Cellule **42**, 269 (1933). — HUSKINS, C. L., and K. C. CHENG: Segregation and reduction in somatic tissues. IV. Reductional groupings induced in *Allium cepa* by low temperature. J. Hered. **41**, 13 (1950). — ISHIKAWA, R.: Studies on the embryosac and fertilization in *Oenothera*. Ann. of Bot. **32**, 279 (1918). — JACHIMSKY, H.: Zur Zytologie der Riesen-Antipodenkerne. Planta (Berl.) **26**, 608 (1937). — JÖNSSON, B.: Om embryosäckens utveckling hos Angiospermna. Lunds Univ. Arsskr. **16** (1879/80). — JOHANSEN, D. A.: Studies in the morphology of the *Onagraceae I*. The megagametophyte of *Hartmannia tetraptera*. Bull. Torrey bot. Club **56**, 285 (1929). — JOSHI, A. C.: Morphology of *Tinospora* cordifolia, with some observations on the origin of the single integument, nature of synergidae, and affinities of the *Menispermaceae*. Amer. J. Bot. **26**, 433 (1939). — JOST, L.: Über die Selbststerilität einiger Blüten. Bot. Ztg Abt. 1 **65**, 77 (1907). — JUEL, H. O.: Studien über die Entwicklungsgeschichte von *Saxifraga granulata*. Nova Acta Soc. Sci. Upsaliensis, Ser. IV, **1**, 1 (1907). — KAIENBURG, A.: Zur Kenntnis der Pollenplastiden und der Pollenschlauchleitung bei einigen *Oenotheraceen*. Planta (Berl.) **38**, 377 (1950). — KNUTH, P.: Handbuch der Blütenbiologie, Bd. III, Teil 1. Leipzig 1904. — KÜSTER, E.: Die Pflanzenzelle, Jena 1935. — LEBON, E.: Sur la formation de l'albumen chez *Impatiens Sultani*. C. r. Soc. Biol. Paris **101**, 1168 (1929). — LENOIR, M.: Le noyau et le cytoplasme vivant dans l'éperon des graines jeunes du *Corydalis cava*. C. r. Soc. Biol. Paris **110**, 615 (1932). — LESSLER, M. A.: Some quantitative aspects of the FEULGEN reaction for desoxyribose nucleic acid. Science (Lancaster, Pa.) **108**, 419 (1948). — LHOTKA, J. F., and H. A. DAVENPORT: The FEULGEN-picric-acid block stain, additional data. Stain Technol. **24**, 127 (1949). — LIMA-DE-FARIA, A.: The structure of the centromere of the chromosomes of rye. Hereditas (Lund) **35**, 77 (1949a). — Genetics, origin and evolution of kinetochores. Hereditas (Lund) **35**, 422 (1949b). — The FEULGEN test applied to centromeric chromomeres. Hereditas (Lund) **36**, 60 (1950). — LINSBAUER, K.: Die

Epidermis. In LINSBAUERS Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. IV, Abt. I, 2. Berlin 1930. — Kerne, Nukleolen und Plasmabewegungen in den Blasenzellen von *Mesembryanthemum cristallinum*. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl., Abt. I **141**, 1 (1932). — LOEW, E.: Der Blütenbau und die Bestäubungseinrichtung von *Impatiens Roylei* WALP. ENGLERS bot. Jb. **14**, 166 (1892). — LONGO, B.: Nuovo ricerche sulla nutrizione dell'embrione vegetale. Rend. acc. Lincei Roma, Ser. 5, **16** (1907). — Ricerche su le *Impatiens*. Ann. di Bot. 8, 65 (1910). — LOUI, JUTTA v.: Fluoreszenzmikroskopische und zytologische Untersuchungen über die Frage der Individualität der Plastiden. Planta (Berl.) **12**, 191 (1931). — MADGE, M. A. P.: Spermatogenesis and fertilization in the cleistogamous flower of *Viola odorata*, var. *praecox Gregory*. Ann. of Bot. **43**, 545 (1929). — MAGNUS: Über eine Zwergform von *Impatiens glandulifera*. Verh. bot. Ver.igg Prov. Brandenburg **23**, 30 (1881). — MAHESHWARI, P.: A critical review of the typs of embryo sacs in angiosperms. New Phytologist **36**, 359 (1937). — Origin of haploid-diploid twin embryos in angiosperms. Nature (Lond.) **156**, 173 (1945). — The angiosperm embryosac. Bot. Rev. **14**, 1 (1948). — The male gametophyte of Angiosperms. Bot. Rev. **15**, 1 (1949). — MAHESHWARI, P., and H. D. WULFF: Recent advances in microtechnic. I. Methods of studying the development of the male gametophyte of angiosperms. Stain Technol. **12**, 61 (1937). — MAHONY, K. L.: Morphological and cytological studies on *Fagopyrum esculentum*. Amer. J. Bot. **22**, 460 (1935). — MARQUARDT, H.: Untersuchungen über den Formwechsel der Chromosomen im generativen Kern des Pollens und Pollenschlauches von *Allium* und *Lilium*. Planta (Berl.) **31**, 670 (1940/41). — MENDES, A. J. T.: Observações citológicas em *Coffea* VIII. *Poliembrionia*. Bragantia **4**, 693 (1944). — MICHAELIS, P.: Entwicklungsgeschichtlich-genetische Untersuchungen an *Epilobium*. III. Zur Frage der Übertragung von Pollenschlauchplasma in die Eizelle und ihre Bedeutung für die Plasmavererbung. Planta (Berl.) **23**, 486 (1935). — Prinzipielles und Problematisches zur Plasmavererbung (Vortrag 1944). Biol. Zbl. **68**, 173 (1949). — MIEHE, H.: Über Wanderungen des pflanzlichen Zellkernes. Flora (Jena) 88, 105 (1900). — MILOVIDOV, P. F.: Zur Theorie und Technik der Nuclealfärbung. Protoplasma (Berl.) **25**, 570 (1936). — Zur Anuklealität des pflanzlichen Nukleolus. Planta (Berl.) **31**, 60 (1940). Physik und Chemie des Zellkernes (Protopl.-Monogr. Bd. 20). Berlin 1949. — MODILEWSKI: Zur Embryobildung von einigen *Onagraceen*. Ber. dtsch. bot. Ges. **27** (1909). MOHRBUTTER, Cl.: Embryologische Studien an *Loganiaceen*. Planta (Berl.) **26**, 64 (1937). — MOLISCH, H.: Mikrochemie der Pflanze, 3. Aufl. Jena 1923. — NAWASHIN, S.: Über das selbständige Bewegungsvermögen der Spermakerne bei einigen Angiospermen. Österr. bot. Z. **59**, 457 (1909). — NAWASHIN, S., u. W. FINN: Zur Entwicklungsgeschichte der chalazogamen *Juglans regia* und *Juglans nigra*. Mem. Acad. Imp. Sci. St. Pétersbourg **31**, 1 (1913). — NĚMEC, B.: Über die Befruchtung bei *Gagea*. Bull. internat. Acad. Sci. Boheme **17** (1912). — NOACK, K. L.: Untersuchungen über die Individualität der Plastiden bei Phanerogamen. Z. Bot. **13**, 1 (1921). — NOTHNAGEL, M.: Fecondation and formation of the primary endosperm nucleus in certain *Liliaceae*. Bot. Gaz. **66**, 143 (1918). — OTTLEY, A. M.: An contribution to the life history of *Impatiens Sultani*. Bot. Gaz. **66**, 289 (1918). — PAINTER, T. S.: Cell growth and nucleic acids in the pollen of *Rhoeo discolor*. Bot. Gaz. **105**, 58 (1943). — PAVULANS, J.: Über die Nuklealreaktion in Embryosäcken und Pollenkörnern einiger Angiospermen. Protoplasma (Berl.) **34**, 22 (1940). — PODDUBNAJA-ARNOLDI, W. A.: Beobachtungen über die Keimung des Pollens einiger Pflanzen auf künstlichem Nährboden. Planta (Berl.) **25**, 502 (1936). — PODDUBNAJA-ARNOLDI, V., u. V. DIANOWA: Eine zytoembryologische Untersuchung einiger Arten der Gattung *Taraxacum*. Planta (Berl.) **23**, 19 (1935). — RAGHAVAN, T. S., K. R. VENKATASUBBAN u. H. D. WULFF: Division of the generative cell in *Impatiens Balsamina* L. Cytologia **9**, 389 (1939). — RAITT, A. H.: The development

of the ovule of *Impatiens pallida* Nutt. Plant World **19**, 195 (1916). — Renner, O., u. G. Preuss-Herzog: Der Weg der Pollenschläuche im Fruchtknoten der *Oenotheren*. Flora (Jena) **36**, 215 (1943). — Ris, H., and A. H. Mirsky: Quantitative cytochemical determination of desoxyribonucleic acid with the Feulgen nucleal reaction. J. gen. Physiol. **33**, 125 (1949). — Rütishauser, A.: Entwicklungsgeschichtliche und zytologische Untersuchungen an *Korthalsella Dacrydii* (Ridl) Danser. Ber. schweiz. bot. Ges. **44**, 389 (1935). — Satina, S., and A. F. Blakeslee: Fertilization in the incompatible cross *Datura stramonium* and *D. Metel*. Bull. Torrey bot. Club **62**, 301 (1935). — Sauer, H.: Blüte und Frucht der *Oxalidaceen, Linaceen, Geraniaceen, Tropaeolaceen* und *Balsaminaceen*. Vergleichend entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen. Planta (Berl.) **19**, 417 (1933). — Sax, K.: Fertilization in *Fritillaria pudica*. Bull. Torrey bot. Club **43**, 505 (1916). — The behavior of the chromosomes in fertilization. Genetics **3**, 310 (1918). — Schacht, H.: Über Pflanzenbefruchtung. J. Bot. **1**, 193 (1858). — Schaede, R.: Beiträge zum Artefaktproblem. Protoplasma (Berl.) **23**, 466 (1935). — Untersuchungen mit der Nuclealreaktion an Kern und Kernteilung. Planta (Berl.) **26**, 168 (1936). — Schmucker, Th.: Über den Einfluß von Borsäure auf Pflanzen, insbesondere keimende Pollenkörner. Planta (Berl.) **23**, 264 (1935). — Schnarf, K.: Embryologie der Angiospermen. Linsbauers Handbuch der Pflanzenanatomie, Abt. II, Teil 2. Berlin 1929. — Vergleichende Embryologie der Angiospermen. Berlin 1931. — Die Befruchtung der Angiospermen. Biologe **10**, 258 (1941a). — Vergleichende Cytologie des Geschlechtsapparates der Kormophyten. Berlin 1941b. — Schneider, H., u. A. Zimmermann: Die botanische Mikrotechnik. Jena 1922. — Schürhoff, F. N.: Amitosen von Riesenkernen im Endosperm von *Ranunculus acer*. Jb. Bot. **55**, 499 (1915). — Die Zytologie der Blütenpflanzen. Stuttgart 1926. — Die Haploidgeneration der Balsamineen und ihre Verwertung für die Systematik Englers bot. Jb. **64**, 324 (1931). — Schweidler, J. H.: Über traumatogene Zellsaft- und Kernübertritte bei *Moricandia arvensis* Dc. Jb. Bot. **48**, 551 (1910). — Schwemmle, J.: Gibt es eine selektive Befruchtung? Biol. Zbl. **68**, 195 (1949). — Serra, J. A.: Sur la composition protéique des chromosomes et la réaction nucléale de Feulgen. Bot. Soc. Brot. **17**, 203 (1943). — Sharp, L. W., u. R. Jaretzky: Einführung in die Zytologie. Berlin 1931. — Shibata, K.: Die Doppelbefruchtung bei *Monotropa uniflora*. Flora (Jena) **90**, 61 (1902). — Shimamura, T.: Zur Zytologie des Befruchtungsvorganges bei *Cycas* und *Ginkgo* unter Benutzung der Feulgenschen Nuclealreaktion. Cytologia **6**, 465 (1935a). — Über die Bestäubung und Befruchtung bei *Ginkgo biloba* L. Jap. J. Genet. **11**, 180 (1935b). — Smith, F. H.: Prochromosomes and chromosome structure in *Impatiens*. Proc. Amer. philosoph. Soc. Philad. **74**, 193 (1934). — Development of the gametophytes and fertilization in *Camassia*. Amer. J. Bot. **29**, 657 (1942). — Souèges, R.: La cellule embryonnaire. Actualités scientifiques et industrielles, Paris, 208. 1935. — La segmentation. 2 fasc. Actualités scientifiques et industrielles, Paris, 318. 1936. — Di Stefano, H. S.: A cytochemical study of the Feulgen nucleal reaction. Chromosoma **3**, 282 (1948a). — A cytochemical study of the Feulgen nucleal reaction. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **34**, 75 (1948b). — Steffen, K.: Untersuchungen an *Impatiens glandulifera* Royle. Diss. Marburg 1944. — Bemerkungen zur Polarität der Angiospermen-Eizelle. Z. Naturforschg **1**, 533 (1946). — Anwendung der Feulgenschen Nuclealreaktion an Pollenschlauchkulturen. Z. Naturforschg **2b**, 451 (1947). — Die blütenbiologische Bedeutung der ligula-artigen Staubblattfortsätze der *Balsamineen*. Biol. Zbl. **67**, 547 (1948a). — Mehrzelliges Archespor bei *Balsamineen*. Planta (Berl.) **36**, 203 (1948b). — Steindl, Fr.: Pollen- und Embryosackentwicklung bei *Viscum album* L. und *Viscum articulatum* Burm. Ber. schweiz. bot. Ges. **44**, 343 (1935). — Stenar, H.: Embryologische Studien. I. Zur Embryologie einiger *Columniferen*. II. Die Embryologie der *Amaryllidaceen*. Akad. Abh.

Uppsala 1925. — STOWELL, E. R.: FEULGEN reaction for thymonucleic acid. Stain Technol. **20**, 45 (1945). — STRASBURGER, E.: Über Befruchtung und Zellteilung. Jena. Z. Naturwiss. **11**, 435 (1878). — Neuere Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang bei den Phanerogamen als Grundlage für eine Theorie der Zeugung. Jena 1884. — SUBRAMANYAM, K.: A contribution to the embryology of *Wahlenbergia gracilis* SCHRAD. Proc. nat. Inst. Sci. India **14**, 359 (1948). — SVENSSON, H. G.: Zur Embryologie der *Hydrophyllaceen, Borraginaceen* und *Heliotropiaceen* mit besonderer Berücksichtigung der Endospermbildung. Uppsala Univ. Arskr. Mat. Nat. **2** (1925). — SVESHNIKOVA, I. N.: Analysis of nucleus development and changes of the thymonucleic acid in ontogenesis. C. R. Acad. Sci. URSS. **32** (3), 216 (1941). SWAMY, B. G. L.: On the post-fertilization development of *Trillium undulatum*. Cellule **52**, 7 (1948a). — A contribution to the life history of *Casuarina*. Proc. Amer. Acad. Arts Sci. **77**, 1 (1948b). — A reinvestigation of the embryosac of *Maianthemum canadense*. Bull. Torrey bot. Club **76**, 17 (1949). — TAHARA, M.: Cytologische Studien an einigen Kompositen. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo, Art. 7 **43** (1921). — TISCHLER, G.: Allgemeine Pflanzenkaryologie. In LINSBAUERS Handbuch der Pflanzenanatomie, 1. Abt., Teil 1. Berlin 1934. 2. Aufl. 1. Hälfte: der „Ruhekern". Berlin 1934. 2. Hälfte: Kernteilung und Kernverschmelzung. Berlin 1942. 2. Lieferung. Berlin 1943. — TSCHERNOJAROW, M. W.: Befruchtungserscheinungen bei *Myosurus minimus*. Österr. bot. Z. **75**, 197 (1926). — UPHOF, J. C. TH.: Cleistogamic flowers. Bot. Rev. **4**, 21 (1938). — VALKANOV, A.: Über die kinetische Energie einiger Zellbestandteile. Protoplasma (Berl.) **20**, 20 (1934). — WENIGER, W.: Fertilization in *Lilium*. Bot. Gaz. **66**, 259 (1918). — WERCKMEISTER, P.: Über Herstellung und künstliche Aufzucht von Bastarden der Gattung *Iris*. Gartenbauwiss. **10**, 500 (1936). — WEST, G.: Cleistogamy in *Viola Riviniana* with special reference to its cytological aspects. Ann. of Bot. **44**, 87 (1930). — WULFF, H. D.: Beiträge zur Kenntnis des männlichen Gametophyten der Angiospermen. Planta (Berl.) **21**, 12 (1934a). — Untersuchungen an Pollenkörnern und Pollenschläuchen von *Impatiens parviflora*. Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 43 (1934b). — Lebendfärbung mit Chrysoidin. Planta (Berl.) **22**, 70 (1934c). — Ein Beitrag zur Bedeutung der Trabantenchromosomen. Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 597 (1934d). — Ein Vergleich zwischen Kultur- und Griffelpräparaten von Pollenschläuchen von *Narthecium ossifragum*. Beih. Bot. Cbl. A **54**, 83 (1935). — WULFF, H. D., and P. MAHESHWARI: The male gametophyte of Angiosperms, a critical review. J. indian. bot. Soc. **17**, 117 (1938). — WYLIE, R. B.: Sperms of *Vallisneria spiralis*. Bot. Gaz. **75**, 191 (1923). — Some aspects of fertilization in *Vallisneria*. Amer. J. Bot. **28**, 169 (1941). — ZACHARIAS, E.: Über Sexualzellen und Befruchtung. Verh. naturwis. Verein Hamburg 1901. — ZIEGENSPECK, H.: Dichroskopie und Metachroskopie. Der Dichroismus und Metachroismus besonders substantiv gefärbter natürlicher Pflanzenmembranen als ein Hilfsmittel zum Erforschen der physikalisch-chemischen Beschaffenheit derselben. Protoplasma (Berl.) **35**, 237 (1941).

Dr. habil. KURT STEFFEN, (16) Marburg a. d. Lahn, Botanisches Institut.

Planta, Bd. 39, S. 245—270 (1951).

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen.

ÜBER DIE LICHTVERHÄLTNISSE IN LAUBFLECHTEN.

Von

LEOPOLD ERTL.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Dezember 1950.)

Der Lichtgenuß der Chloroplasten in den Flechtenalgen wird im allgemeinen als relativ gering angenommen. Denn die obere Rindenschicht der Flechten, die meist mehrschichtig ist und einen sehr großen Teil der Exkrete enthält, verhindert durch die dadurch bedingte starke Lichtabsorption eine sehr starke Beleuchtung der Algenschicht. Nach ZUKAL (1896) lassen die Flechtenrinden nur $^1/_{10}$ bis $^1/_{12}$ soviel Licht durch wie die Epidermen höherer Pflanzen, und ELLÉE (1938) gibt für *Lobaria pulmonaria* und *Peltigera rufescens* die Lichtdurchlässigkeit der wassergesättigten Rinde mit 25%, die der trockenen mit 10% an; die Lichtdurchlässigkeit von Rinde + Algenschicht betrug in nassem Zustand für *Lobaria* 5,4%, für *Peltigera* 6,4%, trocken für beide Arten 2,3%. Die von ZUKAL und ELLÉE angewandte Meßtechnik war aber mit gewissen Mängeln behaftet (s. unten), und sie machten ihre Messungen auch nur nebenbei, so daß daher die Lichtverhältnisse in den Flechten durch ihre Arbeiten nicht als geklärt angesehen werden können.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit soll daher sein, folgende Fragen zu beantworten: 1. Wieviel von dem auf die Flechte auffallenden Licht gelangt bis zu der Algenschicht? 2. Wieviel von dem auf die Flechte auffallenden Licht wird von den Assimilationsfarbstoffen absorbiert? 3. Welche Unterschiede bestehen in den Lichtverhältnissen der Sonnen- und Schattenformen gleicher Arten und wie wirkt sich die Höhenlage des Standortes aus? 4. Inwiefern unterscheiden sich die Lichtverhältnisse in Flechten von denen in Laubblättern? — Es wurden demnach Lichtdurchlässigkeitsmessungen an ganzen Flechten, Flechtenoberrinden und an Oberrinde und Algenschicht zusammen sowie an ganzen Blättern und oberen Epidermen durchgeführt. Von einigen Laubblättern wurde auch die Reflexion gemessen. Die Lichtabsorption wurde aus den gemessenen Werten errechnet.

I. Experimenteller Teil.

A. Methodik.

1. Die Messung der Lichtdurchlässigkeit.

a) Die Meßapparatur.

Das *Prinzip der Meßapparatur* ist, auf das vor dem Loch einer Blende angebrachte Objekt ein Lichtbündel bekannter Intensität zu werfen und dahinter die Intensität des durchgelassenen Lichtes zu messen.

Die *Meßanordnung im einzelnen* (Abb. 1): Auf einer Unterlage (Sperrholzbrett) war eine Niedervoltprojektionslampe (*L*) befestigt. Der engste Querschnitt ihres Lichtbündels lag im Abstand von 16 cm. Dort war senkrecht auf der Unterlage ein Brett (*H*) befestigt, an dem in einer Öffnung eine Blende (*B*) angebracht war, deren Lochdurchmesser 1,5 mm betrug. Das Loch der Blende fiel mit dem engsten Lichtbündelquerschnitt zusammen. An dieser Stelle wurde das zu untersuchende Objekt eingeschaltet (s. unten). Zur Absorption der Wärmestrahlen wurde in den Lichtkegel eine 3,5 cm dicke planparallele Küvette (*C*) mit Wasser gebracht.

Die *Messung der durchgelassenen Lichtintensität* bot einige *Schwierigkeit*, da das Licht beim Durchgang durch pflanzliche Gewebe *stark zerstreut* wird und mit keinem der bestehenden Lichtmeßinstrumente vollständig erfaßt werden kann.

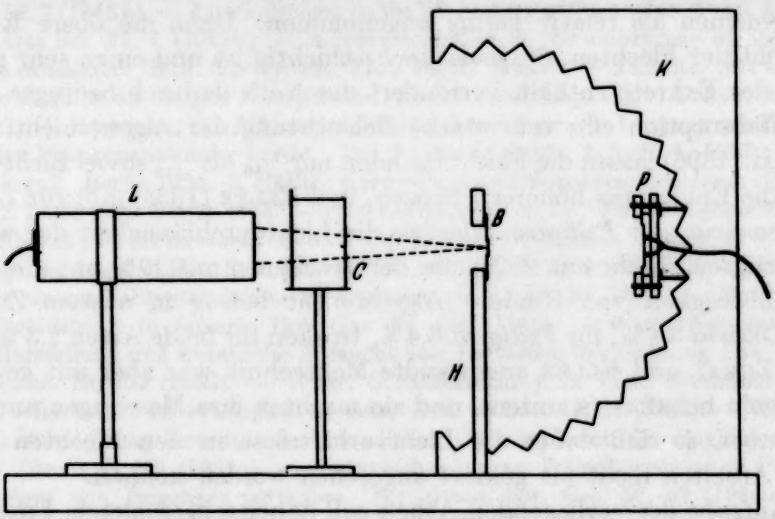


Abb. 1. Schema der Meßapparatur. *B* Blende, *H* Brett zum Festhalten der Blende, *K* Führung, *C* Kühlküvette, *L* Niedervoltprojektionslampe, *P* Photoelement.

Daher wurde die durchgelassene Lichtintensität so bestimmt, daß zuerst die *Verteilung des Lichtes im Streuraum* gemessen und daraus, wie unten noch näher ausgeführt wird, die Gesamtintensität errechnet wurde.

Die Verteilung des durchgelassenen Lichtes ergibt sich durch Messungen der Bestrahlungsstärken *längs eines Halbkreises*, dessen Kreismittelpunkt das Objekt ist und dessen Mitte auf der optischen Achse des Lichtkegels liegt. Die Bestrahlungsstärken wurden in Winkelabständen von je 10^0 mit dem Selen-Sperrschicht-Photoelement S 60 (*P*) von LANGE (LANGE 1936) (lichtabsorbierende Fläche 10 cm^2) und einem Spiegelgalvanometer (Stromkonstante $2 \cdot 10^{-8}$ Amp., innerer Widerstand 65 Ω) gemessen. Das Photoelement wurde auf einer halbkreisförmigen Führung (*K*) um das Objekt als Mittelpunkt herumbewegt (Abstand 12,1 cm). Um den Winkel genau einstellen zu können, war in der Führung und an der Rückseite des Photoelements eine Rastvorrichtung angebracht.

Die *Meßgenauigkeit* könnte vielleicht dadurch begrenzt sein, daß das auf das Objekt geworfene Licht *nicht genau parallel* war. Der halbe Öffnungswinkel des Lichtkegels (Abb. 1) betrug 5^0. Man könnte annehmen, daß die nicht senkrecht auf das Objekt auffallenden Strahlen des Lichtkegels beim Durchgang durch dasselbe einen längeren Weg zurückzulegen hätten als die senkrecht auffallenden und daher stärker geschwächt würden als diese. Um das zu prüfen, wurde der Lichtdurchtritt bei einer Anzahl von Flechtenrinden und Laubblattepidermen unter

Tabelle 1. *Lichtdurchlässigkeit von Flechtenrinden und Blattepidermen bei verschiedenem Einfallswinkel des Lichtes.*

Pflanzenart	Wassergehalt	Von der Rinde bzw. Epidermis durchgelassene Lichtintensität in % bei Einfallswinkel des Lichtes von			
	%	0°	30°	60°	diffus
Peltigera praetextata . . .	0[1]	21	20	20	20
	100	57	54	50	55
Peltigera spuria	0	46	45	42	45
	100	71	67	60	70
Nephroma laevigatum . .	0	25	23	20	23
	100	45	42	40	40
Parthenocissus vitacea . .	100	96	95	90	95
Fagus silvatica	100	86	85	80	85
Vicia faba	100	95	90	90	95

[1] 0 bzw. 100% Wassergehalt ist der Wassergehalt der trockenen bzw. wassergesättigten Flechtenrinde oder Epidermis.

verschiedenem Lichteinfallswinkel untersucht (Tabelle 1). Selbst bei einem Einfallswinkel von 60° war die Lichtschwächung aber nur unbedeutend geringer als bei senkrechtem Lichteinfall. Auch der Feuchtigkeitsgehalt der Flechten, der für die nachstehenden Untersuchungen von Bedeutung ist, übte keinen Einfluß auf diese Verhältnisse aus. In diffusem Licht ergaben sich ungefähr die gleichen Werte wie bei gerichteten Strahlen. Bei dem schmalen Lichtbündel, das bei den nachstehenden Versuchen immer verwendet wurde, ist daher wohl *kaum mit Abweichungen gegenüber parallelem Licht zu rechnen.*

b) Die Messung.

Zuerst wurde die Stärke des durch das Loch der Blende hindurchfallenden Lichtes festgestellt. Da alle Objekte auf einem Deckglas durchleuchtet wurden, wurde bei dieser Leermessung zunächst ein Deckglas in den Strahlengang gebracht. Dann wurde an Stelle dieses Deckglases ein solches mit dem Objekt in den Lichtkegel eingeschaltet und die Messung durchgeführt. Zur Kontrolle wurde nachher noch einmal die Intensität des Lichtbündels ermittelt, da die Spannung des städtischen Stromnetzes etwas schwankte.

Auswertung. Da die beschriebene Messung nur eine linienhafte Messung zur Berechnung eines Streuraumes ist, so müssen die gemessenen Bestrahlungsstärken über die Oberfläche einer Halbkugel integriert werden, deren Mittelpunkt das Objekt und deren größter Halbkreis der Halbkreis ist, auf dem die Messung durchgeführt wird. Denn es finden sich die gleichen Bestrahlungsstärken immer längs eines Breitenkreises des gleichen Winkels auf dieser Halbkugeloberfläche wieder. Da hier die Bestrahlungsstärken in Winkelabständen von je 10° gemessen wurden, so wurden sie jeweils längs eines Halbkugeloberflächenringes von der Höhe 10°, dessen Mittellinie der Breitenkreis des betreffenden Winkels war, als konstant angesehen. Also ist die gesamte Lichtintensität die Summe der Produkte aus gemessener Bestrahlungsstärke im Winkel φ mal der Fläche des zu diesem Winkel gehörenden Halbkugeloberflächenringes[1].

[1] Auf eine Messung der absoluten Lichtintensitäten wurde verzichtet, da es nur auf Verhältniswerte ankommt. Daher sind im folgenden auch nur die relativen Lichtintensitätswerte angegeben.

In einigen Fällen war es nötig, die Objekte für die Durchleuchtungsmessungen zwischen 2 Deckgläser zu legen. Der Lichtverlust durch ein Deckglas betrug 9%; daher wurden diese Werte mit 1,1 multipliziert.

2. Die Messung der Streureflexion.

Zur Messung der Streureflexion der Blätter wurde das Objekt in entgegengesetzter Richtung beleuchtet. Mittels schwarzen Tuches, das über die Blende geklebt war, wurde der Hintergrund der Objekte völlig lichtabsorbierend gehalten.

Das Objekt mußte etwas seitlich beleuchtet werden, da in der Richtung des Einfallslotes mit der Photozelle gemessen wurde. Der Einfallswinkel betrug ungefähr 10^0. Das ist praktisch jedoch kein Fehler. Denn Laubblätter reflektieren das Licht nicht mit dem Einfallswinkel, sondern streuen es fast ideal diffus zurück, d. h. daß ihre Streureflexion fast unabhängig vom Einfallswinkel rotationssymmetrisch zur Blattnormalen verteilt ist. Das gilt nicht nur für nicht glänzende Blätter, sondern auch für glänzende. Denn deren glatte Oberfläche bewirkt nur eine zusätzliche, vom Einfallswinkel teilweise abhängige Spiegelung, die im Verhältnis zur Streureflexion aber so gering ist, daß sie vernachlässigt werden kann.

3. Präparation der Objekte.

Um die Messungen an Flechtenrinden durchführen zu können, wurden von der Unterseite der Flechte her die Mark- und die Algenschicht mit einer Präpariernadel losgetrennt. Reste der Algenschicht wurden mit Hollundermark weggewischt. Um die Rinden- und Algenschicht zusammen freizubekommen, brauchte nur die Markschicht entfernt zu werden.

Das Abpräparieren der Blattepidermen geschah unter Umständen genau so wie das der Flechtenrinden. Es ging nur viel leichter. Meist konnten sie von den Blättern einfach abgezogen werden.

Für die Messungen wurden die zu untersuchenden Objekte, sofern sie in wassergesättigtem Zustand durchleuchtet werden sollten, mit sehr wenig Wasser auf ein Deckglas geklebt. Dieses wurde dann durch Bestreichen seines Randes mit Vaseline an Stelle des leeren Deckglases, das zur Messung der auf das Objekt gestrahlten Lichtintensität an der Blende befestigt war, an dieser angeklebt. Flechtenstücke mit nicht vollem Wassergehalt wurden, damit sich dieser nicht ändern konnte, zwischen 2 Deckgläser gelegt, die mit Vaseline abgedichtet wurden.

B. Lichtmessungen in Flechten.

1. Der relative Lichtgenuß der Flechtenalgen.

Die von der Rindenschicht der Flechten bei senkrechtem Lichteinfall durchgelassene Lichtintensität wird nachstehend als „relativer Lichtgenuß der Flechtenalgen" bezeichnet; sie wird in Prozenten der auffallenden ausgedrückt und auf die Fläche der Flechte bei Wassersättigung bezogen.

a) Der relative Lichtgenuß der Flechtenalgen der wassergesättigten Flechte.

Nach den Untersuchungen von ZUKAL (1896) und ÊLLÉE (1938) gelangt nur relativ wenig Licht an die Algen in den Flechten.

ZUKAL brachte 1—2 cm^2 große Stücke der Flechtenrinden oder Laubblattepidermen unter den Tubus eines Mikroskops, von dem Objektiv und Okular entfernt waren. Der Tubus wurde fest auf das Objekt aufgepreßt, so daß von der Seite

kein Licht eindringen konnte. Auf das Okularende wurde lichtempfindliches Papier gebracht. Ein bestimmter Schwärzungsgrad wurde dabei bei den Flechten erst nach 10—12mal längerer Exposition als bei den Blattepidermen erreicht. Diese Vergleichsmethode kann aber keine zuverlässigen Werte geben, da die einschichtigen Epidermen das Licht viel weniger als die meist mehrschichtigen Flechtenrinden streuen. Die 10mal schnellere Schwärzung des lichtempfindlichen Papieres bei den Epidermen kam also in der Hauptsache daher, daß infolge ihrer geringen Streuung das Licht fast vollständig auf das lichtempfindliche Papier fiel, während bei den Flechtenrinden die Hauptmasse des Lichtes an die schwarze Innenwand des Tubus geworfen wurde, die es verschluckte.

Auch Ellées Methode gibt keine zuverlässigen Werte. Er warf mit einer Niedervoltpunktlampe und durch eine Sammellinse Licht auf das Objekt; der dabei entstehende Schatten wurde durch eine Sammellinse vergrößert und auf eine Photozelle scharf abgebildet. Dabei fällt aber infolge der Streuung durch die Rinden ein Teil des von ihnen durchgelassenen Lichtes nicht mit auf die Linse und daher auch nicht auf die Photozelle. Auch Ellées Werte müssen also zu niedrig sein.

Bei den eigenen Versuchen ergaben sich daher *höhere Werte für den relativen Lichtgenuß* der Algen in den wassergesättigten Flechten. Sie sind in Tabelle 2 (Spalte IV) angeführt.

Unter den *farblosen* Flechten lagen die Verhältnisse am ungünstigsten bei *Peltigera praetextata*, wo bei der Sonnenform nur 57% des auf die Oberfläche der Flechte auffallenden Lichtes bis an die Algen gelangte. Im allgemeinen lag der relative Lichtgenuß der Algen zwischen 60 und 70%; im günstigsten Falle (bei *Lobaria amplissima*) stieg er bis 76%.

Im übrigen war die Lichtabsorption eindeutig abhängig von den Lichtverhältnissen am natürlichen Standort der Flechten. Denn die Rindenschichten der Schattenexemplare ließen durchwegs mehr Licht zu den Algen durch, da sie dünner sind als bei den an sonnigen Standorten gewachsenen Flechten. Darauf wird unten noch ausführlicher eingegangen werden.

Bei den *farbigen* Flechten war die Lichtdurchlässigkeit der Rinden naturgemäß geringer. Am meisten ließ *Cetraria nivalis* (gelb) durch; ihre Lichtdurchlässigkeit übersteigt mit 64% sogar ein wenig die der am stärksten absorbierenden farblosen Arten. Bei den übrigen gefärbten Arten ging aber fast die Hälfte oder sogar noch mehr auf dem Weg zu den Algen verloren [Lichtdurchlässigkeit 46 und 48% bei *Umbilicaria pustulata* (schwarz) und *Nephroma laevigatum* (dunkelbraun)]. Da die Rinden der untersuchten Arten nur relativ dünn waren (20—35 μ gegenüber 25—50 μ bei den farblosen), wird die Lichtschwächung also im wesentlichen durch die Farbstoffe bedingt, wie es ja auch zu erwarten war.

b) Der relative Lichtgenuß der Algen beim Austrocknen der Flechten.

Beim Austrocknen der Flechten füllen sich die Zwischenräume zwischen den Hyphen und deren Lumina mit Luft und die Hyphenwände entquellen. Da die Brechungsindices von Luft und trockener Hyphenwand sehr verschieden sind, die von Wasser und gequollener Hyphenwand einander jedoch sehr nahe liegen, so sind sie im Vergleich zu diesen

Tabelle 2. *Relativer Lichtgenuß der Flechtenalgen.*

I	II	III	IV	V	VI	VII
	Relativer Lichtgenuß der Flechten am Standort	Dicke der Rinden bei Wassersättigung	Lichtdurchlässigkeit der Oberrinden[1]		Relative Fläche der trockenen Flechte[2]	Relativer Lichtgenuß der Algen in den trokkenen Flechten[3]
			wassergesättigt	trocken		
	%		%	%	%	%
Farblose:						
Peltigera praetextata .	5[4]	30	73	54	50	27
	100	50	57	21	58	12
Peltigera rufescens .	Schatten	40	65	37	65	24
	100	45	60	23	65	15
Peltigera spuria . . .	Schatten	30	71	46	64	29
Peltigera canina . .	—[5]	45	65	31	60	18
Solorina saccata . .	Schatten	30	68	42	59	25
	100	35	63	26	62	16
Lobaria pulmonaria .	—	30	73	50	52	26
Lobaria amplissima .	—	25	76	56	65	36
Evernia prunastri . .	—	30	70	40	66	26
Cladonia digitata (Thallusschuppe) .	Schatten	30	71	44	70	31
Anaptychia ciliaris .	—	20	61	30	79	24
Farbige:						
Nephroma laevigatum	—	25	48	25	64	16
Umbilicaria pustulata	100	30	46	25	71	18
Cetraria islandica . .	100	35	56	28	68	19
Cetraria nivalis . . .	100	25	64	40	70	28
Parmelia physodes .	100	20	58	38	69	26

[1] In Prozenten des auffallenden Lichtes.

[2] In Prozenten der Fläche der wassergesättigten Flechte.

[3] Produkt aus V und VI.

[4] Der relative Lichtgenuß am Standort einer Pflanze ist nach WIESNER (1907) das Verhältnis der Lichtintensität am Standort zur Intensität des vollen Tageslichtes. In Abänderung von WIESNER, der ihn als Bruch angibt, wird er hier in Prozenten angegeben.

[5] Wo ein Strich gesetzt ist, wurde der Lichtgenuß am Standort nicht ermittelt.

optisch sehr inhomogen. Dadurch ergibt sich von vornherein, daß ihre Lichtdurchlässigkeit geringer sein muß als die der nassen Rinden.

Die durch die Austrocknung der Rindenschichten zustande kommende Lichtminderung war zum Teil sehr stark, wie Spalte V der Tabelle 2 zeigt. Die Lichtdurchlässigkeit sank in manchen Fällen auf die Hälfte und weniger (bei den *Peltigera*-Arten), so daß im Extrem nur wenig mehr als 20% des auf die Oberfläche auffallenden Lichtes durch die Rinde drang (bei *Peltigera praetextata* 21%, bei *Peltigera rufescens* 23%, bei *Solorina saccata* 26%). Diese starke Schattierung durch die Rindenschicht war wieder, wie nicht anders zu erwarten, bei den Starklichtflechten sehr viel erheblicher als bei den im Schatten gewachsenen. Im übrigen war

sie nicht bei allen Flechtenarten so weitgehend. So gelangten bei *Lobaria pulmonaria* auch im völlig ausgetrockneten Zustand noch 50% und bei *Lobaria amplissima* sogar noch 56% des auffallenden Lichtes an die Algenschicht. Bei den farbigen Arten war auch in ausgetrocknetem Zustand das bis zu den Algen vordringende Licht sehr schwach.

In welchem Maße beim allmählichen Austrocknen der Flechten die von den Rinden durchgelassenen Lichtintensitäten abnehmen, zeigt Abb. 2. Die Werte wurden folgendermaßen gefunden:

In eine oben tubulierte Glasglocke, in der durch Auslegen mit nassem Fließpapier eine wasserdampfgesättigte Atmosphäre herrschte, hing an einem Faden ein Stück einer zunächst trockenen Flechte, an der für die Durchleuchtung ein Stück Rinde freipräpariert war. Die Flechte nahm nun aus der Luft den Wasserdampf auf. Der Faden war an dem Arm einer Torsionswaage befestigt, so daß die Flechte in der Glocke hängend gewogen werden konnte. Sobald die Wägung den gewünschten Wassergehalt ergab, wurde das Flechtenstück sehr rasch zwischen 2 Deckgläser gebracht. Bei einigermaßen schneller Messung behielt das Rindenstück seinen Wassergehalt unverändert oder fast unverändert bei. Die 100%ige Sättigung wurde durch Einlegen der Flechten mit Wasser erreicht.

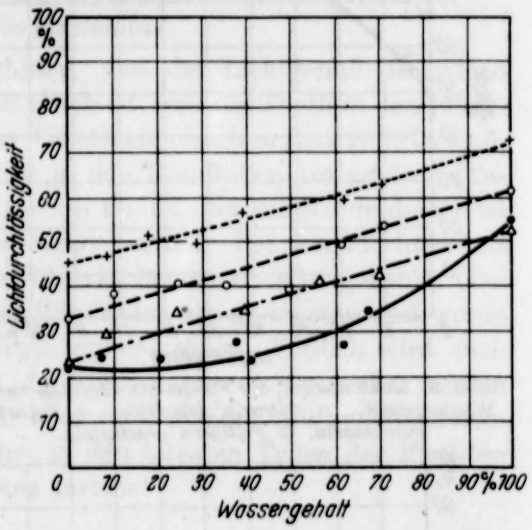


Abb. 2. Lichtdurchlässigkeit der Flechtenrinden bei verschiedenem Wassergehalt (Wassersättigung = 100 % gesetzt). △ *Cetraria islandica*, + *Lobaria pulmonaria*, ● *Peltigera praetextata*, ○ *Peltigera praetextata*, Haare entfernt.

Da die Flechten nur bis zu etwa 70% ihres maximalen Wassergehalts aus der Luft aufnehmen können, konnten Lichtdurchlässigkeitswerte bei den Wassergehalten zwischen 70 und 100% nicht gemacht werden.

Die Messungen wurden an *Cetraria islandica*, *Lobaria pulmonaria* und *Peltigera praetextata* (letztere in behaartem und unbehaartem Zustand) durchgeführt. Wie Abb. 2 zeigt, nahm die Lichtdurchlässigkeit etwa linear mit dem steigenden Wassergehalt zu. Ein Unterschied, freilich kein prinzipieller, scheint dabei zwischen Flechten mit behaarter und unbehaarter Rinde zu bestehen. Während bei diesen die Lichtdurchlässigkeit linear mit dem Wassergehalt zunimmt, steigt sie bei jenen mit zunehmendem Wassergehalt zuerst langsam und dann schneller. Das kommt daher, daß die Zwischenräume zwischen den Haaren sich schon beim geringsten Austrocknen mit Luft füllen. Darum wurde bei *Peltigera praetextata* auch die Lichtdurchlässigkeit einer Rinde untersucht, bei der die Haare entfernt worden waren. Bei ihr nahm die Licht-

durchlässigkeit wie bei den anderen unbehaarten Rinden linear mit dem Wassergehalt zu.

In Wirklichkeit gelangt zu den Algen aber noch viel weniger Licht. Denn beim Austrocknen *schrumpfen* die Flechten noch stark zusammen. Demgemäß ist der Lichtgenuß der Flechtenalgen das Produkt aus Lichtdurchlässigkeit der Rindenschicht und der relativen Fläche der trockenen Flechte (VI). Abb. 3 zeigt das Zusammenschrumpfen der Flechten mit abnehmendem Wassergehalt.

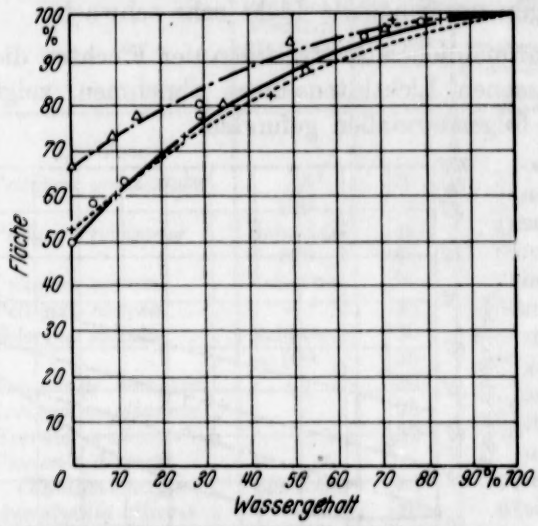


Abb. 3. Abhängigkeit der Fläche der Flechten vom Wassergehalt. △ *Cetraria islandica*, + *Lobaria pulmonaria*, ○ *Peltigera praetextata*.

Zur Flächenbestimmung wurden die Flechten mit einer Glasscheibe auf Millimeterpapier gedrückt und die Quadratmillimeter abgezählt, die zwischen der Flechte und einer bestimmten, auf das Papier um die Flechte herum aufgezeichneten Fläche fehlten. Die Differenz ergab die Fläche der Flechte. Die Werte wurden in Prozente umgerechnet (Fläche bei Wassersättigung = 100% gesetzt).

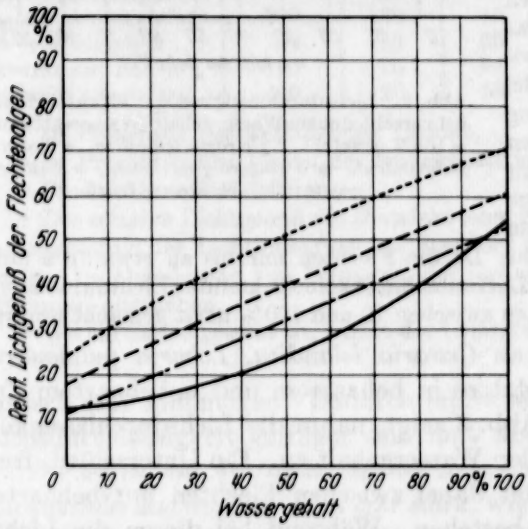


Abb. 4. Relativer Lichtgenuß der Flechtenalgen bei verschiedenem Wassergehalt. —·—·— *Cetraria islandica*, - - - - - *Lobaria pulmonaria*, ——— *Peltigera praetextata*, – – – – – *Peltigera praetextata*, Haare entfernt.

Mit abnehmendem Wassergehalt nimmt die Fläche der Flechte zuerst langsam und dann schneller ab. Wie aus Spalte VI der Tabelle 2 hervorgeht, war das Zusammenschrumpfen der Flechten beim Austrocknen im allgemeinen ziemlich stark. So betrug sie bei den im Schatten gewachsenen Formen von *Peltigera praetextata* 50%. Im allgemeinen betrug die Fläche der trokkenen Flechten im Verhältnis zu der bei Wassersättigung etwas weniger als 70%. Am wenigsten schrumpfte *Anaptychia ciliaris* (trockene Fläche 79%).

Werden nun die Werte der Abb. 2 mit denen der Abb. 3 beim gleichen Wassergehalt miteinander multipliziert, so erhält man die Kurven der

Abb. 4. Man sieht, daß der relative Lichtgenuß der Flechtenalgen ähnlich wie die Lichtdurchlässigkeit der Rinden etwa linear mit dem Wassergehalt abnimmt, nur schneller. *Bei den trockenen Flechten ist der relative Lichtgenuß sehr gering.* Nur in 2 Fällen betrug er mehr als 30% (*Lobaria amplissima* 36%, *Cladonia digitata* 31%); bei fast der Hälfte fiel er unter 20%. Bei der Sonnenform von *Peltigera praetextata* lag er mit 12% (geringster gemessener Wert) noch unterhalb dessen der farbigen Flechten.

c) Der relative Lichtgenuß der Algen in verschiedenen Zonen des Flechtenthallus.

Von vornherein ist anzunehmen, daß der Lichtgenuß der Algen nicht an allen Stellen der Flechte gleich ist, weil die Thalli in den jüngeren Randzonen dünner und unter Umständen auch anders gefärbt sind. Bei den farblosen Flechten war er in den Randteilen am größten (Tabelle 3) und nahm gegen die Mitte hin ab, da hier die Rinde dicker ist und dauernd Exkrete in ihr abgelagert werden. Bei den Flechten mit gefärbter Rinde war es dagegen überraschenderweise umgekehrt. Bei ihnen war der Lichtgenuß in den Randteilen am geringsten und wurde gegen die Mitte bzw. gegen hinten immer größer. Freilich wird auch bei ihnen, je älter die Flechte ist, die Rinde immer dicker, und es werden Exkrete in ihr abgelagert. Dafür aber verschwinden mit zunehmendem Alter die Farbstoffe immer mehr; in den ältesten Teilen der Flechten ist die Rinde vielfach schon ganz farblos.

Tabelle 3. *Relativer Lichtgenuß der Flechtenalgen in verschiedenen Zonen des Flechtenthallus.*

	Lichtdurchlässigkeit der Oberrinde bei 100 % Wassergehalt bei Entfernung vom Rande in cm																		
	0,2	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	6	7	8	9	10	11	13	14	15
Farblose:																				
Peltigera praetextata	65	62	61	60	58	59	56	56	54	53	55	50	53	52	53	51	47	51	50	51
Peltigera rufescens .	72	70	70	70	67	64	64	62	63	60	61	59	57							
Lobaria amplissima	81	81	68	76	76	73	74		72											
Solorina saccata . .	68	64	62	60	61	58	58													
Farbige:																				
Cetraria islandica .	49	50	54	54	57	58	59	64												
Nephroma laevigatum	40	40	45	48	47	50		51	55	57										

2. Lichtabsorption in der Flechtenalgenschicht.

Die nachstehenden Versuche haben den Zweck, den Bruchteil des auf die Flechte auffallenden Lichtes zu bestimmen, der vom Chlorophyll absorbiert wird.

Die Bestimmung wurde nach einer Methode durchgeführt, die im Prinzip zum Teil auf Meyer (1893), zum Teil auf Linsbauer (1901) zurückgeht, die sie an Laubblättern anwandten.

MEYER hat aus Blättern das Chlorophyll extrahiert, um seinen Einfluß auf die Absorption der Wärmestrahlen festzustellen. LINSBAUER hat sich bemüht, die Lichtabsorption des Chlorophylls in Blättern zu bestimmen; dazu hat er die farblosen und die grünen Stellen panaschierter Blätter durchleuchtet.

Diese Arbeiten sind jedoch von URSPRUNG kritisiert worden (1903 gegen MEYER, 1918 gegen LINSBAUER). Während MEYER ein technischer Fehler unterlaufen ist, sind LINSBAUERS Berechnungen insofern unrichtig, als er die Lichtabsorption durch das Chlorophyll der Differenz der Absorptionen der grünen und der weißen Stellen gleichsetzte. Die tatsächliche Absorption durch das Chlorophyll aber ist größer als diese Differenz, da durch sein Vorhandensein die Absorption durch die farblosen Blattbestandteile natürlich geringer wird. Eine Berechnung der Lichtabsorption durch das Chlorophyll gibt URSPRUNG jedoch auch nicht an. Seinen Absorptionsfaktor („Absorptionsvermögen") berechnete er (1918) mit $\frac{I_1 - I_2}{I_1}$, wobei I_1 die von der farblosen und I_2 die von der grünen Blattfläche durchgelassene Lichtintensität bedeutet.

In den folgenden Versuchen wurde folgende Methode verwendet: Mittels Alkohol (96%) wurden aus 4 cm² Flechte die Farbstoffe extrahiert, nachdem vorher die Rhizinen und die Unterrinde und so gut es ging, wegen der Flechtensäuren, auch die Oberrinde entfernt und der Rest mit Glassplittern zerrieben worden war. Die Lösung wurde nun in einer 0,6 cm dicken und ebenfalls 4 cm² großen Küvette durchleuchtet. Bezeichnet man die von der Küvette durchgelassene Lichtintensität mit I_f, die von der Küvette mit Alkohol durchgelassene mit I, so ergibt sich der Absorptionsfaktor der Farbstoffe in der Lösung f (nach URSPRUNG) mit $f = \frac{I - I_f}{I}$. Die Messung konnte direkt im Lichtkegel durchgeführt werden, weil die Farbstofflösung das Lichtbündel praktisch nicht zerstreut.

Diese Methode ist allerdings ungenau, da sich in der Lösung die optischen Eigenschaften des Chlorophylls gegenüber dem Blatt etwas ändern. Aber eine Berechnung der Absorption nach der Methode von LINSBAUER ist nicht durchführbar. Denn die Flechtenalgenschicht kann nicht farblos gemacht werden, ohne die Flechtenalgenschicht zu zerreiben. Wie sich aber auf S. 264 zeigen wird, halten sich die Fehler dieser Messungen in sehr erträglichen Grenzen.

Um die Absorption der Farbstoffe in der Flechtenalgenschicht zu errechnen, muß man den Umweg über den Absorptionsfaktor der Flechtenalgenschicht a und den Absorptionsfaktor der farblosen Bestandteile der Flechtenalgenschicht w gehen, und zwar ist $a = \frac{A_a}{I_o \cdot L}$. Dabei ist A_a die von der Flechtenalgenschicht absorbierte Lichtintensität oder $I_o \cdot L - I_a$; I_o ist die auf die Flechte auffallende und I_a die von der Rinde und der Algenschicht zusammen durchgelassene Lichtintensität, L der relative Lichtgenuß der Flechtenalgen. A_a wurde gefunden, indem zuerst Rinde und Flechtenalgenschicht zusammen durchleuchtet wurden, dann die Flechtenalgenschicht entfernt und die Rinde allein durchleuchtet wurde; A_a ist die Differenz der beiden Werte.

$w = \frac{a - f}{1 - f}$, berechnet aus $(1 - f)(1 - w) = 1 - a$.

Die von den Farbstoffen in der Flechtenalgenschicht absorbierte Lichtintensität A_f ist $A_f = \frac{A_a \cdot f}{w + f}$. Ausgedrückt in Prozenten ist die Absorption der Farbstoffe (dimensionslose Zahl)

$$A_f\,\% = \frac{A_a \cdot f \cdot 100}{I_o\,(w + f)}.$$

Diese Ableitung beruht darauf, daß in einer Mischung die Lichtabsorptionen der einzelnen Bestandteile sich zueinander wie ihre Absorptionsfaktoren verhalten. Die Verteilung der Farbstoffe in der Flechtenalgenschicht ist auf die gesamte Fläche der Flechte bezogen bestimmt gleichmäßig. Auch URSPRUNG muß bei den Laubblättern davon ausgegangen sein.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Die von den Farbstoffen der Flechtenalgenschichten absorbierten Lichtintensitäten (unter der Bezeichnung A_f) betrugen im Durchschnitt etwa 25% der auf die Oberfläche der Flechten auffallenden Lichtintensität. Am geringsten war die Absorption bei *Parmelia physodes* mit 21%, am größten bei der Schattenform von *Peltigera praetextata* mit 30%. Alle anderen Werte lagen zwischen 25 und 28%.

Tabelle 4. *Lichtabsorption in der Flechtenalgenschicht.*

L relativer Lichtgenuß der Flechtenalgen; I_a von Rinde + Algenschicht durchgelassene Lichtintensität; I_f von der Farbstofflösung durchgelassene Lichtintensität; a Absorptionsfaktor der Algenschicht; w Absorptionsfaktor des farblosen Gewebes der Algenschicht; A_f von den Farbstoffen absorbierte Lichtintensität.

	Relativer Lichtgenuß am Standort %	L %	I_a %	I_f %	a	w	A_f %
Peltigera praetextata . .	5	74	33	54	0,55	0,17	30
	100	57	17	40	0,70	0,25	28
Peltigera rufescens . . .	10	67	35	59	0,48	0,12	25
	100	60	23	49	0,62	0,23	25
Peltigera spuria	Schatten	71	30	54	0,58	0,22	28
Solorina saccata	Schatten	69	32	59	0,54	0,22	28
	Sonne	62	23	50	0,63	0,26	26
Lobaria pulmonaria . .	—	73	31	55	0,58	0,24	27
Lobaria amplissima . .	—	75	34	57	0,55	0,21	28
Parmelia physodes . . .	100	58	29	59	0,50	0,15	21
Cladonia digitata (Thallusschuppe) . .	Schatten	71	28	55	0,61	0,29	26

3. Sonnen- und Schattenindividuen gleicher Arten.

Bei verschieden hohem Lichtgenuß am Standort bilden viele Flechten ihren Thallus verschieden aus. Darauf ist schon vielfach hingewiesen worden (BITTER 1901, TOBLER 1925, SANDSTEDE 1931 u. a.). Für Laubflechten gilt ganz allgemein, daß die Sonnenformen dickere Rinden- und dickere Algenschichten haben, daß ihre Hyphen dichter beisammen liegen und ihre Oberrinden mehr Flechtensäuren enthalten als die Schattenformen. Allerdings gilt diese Regel nicht immer. So gibt BITTER (S. 466) von *Parmelia vittata* an, daß die Sonnenformen „geringere Größen in allen Proportionen" haben. Die Lichtverhältnisse in Sonnen- und Schattenformen sind jedoch noch nicht näher untersucht.

Tabelle 5. *Lichtdurchlässigkeit in Prozenten des auffallenden Lichtes von Individuen verschiedener Standorte* (Flechten wassergesättigt).

	Himmelsrichtung des Standorts								
	N	NW	W	SW	S	SO	O	NO	horizontal
Xanthoria parietina	18	18	16	14	11	11	13	17	11
Parmelia physodes	11	9	6	6	5	6	7	10	—
Parmelia tiliacea	8	8	6	5	5	5	5	7	5
Parmelia caperata	6	7	5	5	4	4	4	5	—
Evernia prunastri	6	—	4	—	4	—	4	—	—
Umbilicaria pustulata . . .	—	—	2	2	2	3	3	5	2

Bei den nachfolgenden Messungen soll als ungefähres reziprokes Maß für die Dicke einer Flechte und die Menge der Farbstoffe die Lichtdurchlässigkeit der Flechten gelten. Sie ist in Tabelle 5 und Abb. 5 von Flechten angegeben, die an verschiedenen Seiten von freistehenden Steinen und Bäumen (Straße von Bernau nach Prien am Chiemsee, Oberbayern) und daher in verschiedenem Lichtgenuß gewachsen sind[1]. Man sieht, daß mit zunehmender Südexposition die Lichtdurchlässigkeit der Flechten abnimmt. Besonders deutlich zeigte das *Xanthoria parietina*, da ihre Lichtdurchlässigkeit verhältnismäßig groß ist. So ließ ein Exemplar, das an der Nordseite eines Steines gewachsen war, 18% des auffallenden Lichtes durch, während eines von der Südseite nur 11% durchließ. Die Lichtdurchlässigkeitswerte der Exemplare aus den anderen Himmelsrichtungen stuften sich entsprechend ein. Genau so lagen die Verhältnisse bei den anderen untersuchten Arten, wenn auch die geringsten und die größten Durchlässigkeiten nicht immer diejenigen Exemplare zeigten, die direkt im Süden bzw. im Norden gewachsen waren.

Übereinstimmend mit der Abnahme der Lichtdurchlässigkeit der ganzen Thalli bei verstärktem Lichtgenuß am Standort nahm auch die *Lichtdurchlässigkeit der Rindenschichten* ab (Tabelle 2). Am größten waren die Unterschiede bei *Peltigera praetextata*. So ließ die Rindenschicht der in vollem Tageslicht gewachsenen Formen nur 57% des auffallenden Lichtes bis zur Algenschicht durch, während die Lichtdurchlässigeit bei Exemplaren, die bei einem Lichtgenuß von 5% gewachsen waren, 73% betrug. Ähnlich, wenn auch nicht so extrem, lagen die Verhältnisse bei den Sonnen- und Schattenformen von *Peltigera rufescens* und *Solorina saccata* (5% Differenz). Der Grund für die geringere Absorption der Rinden bei den Schattenexemplaren ist sehr einfach: Ihre Rindenschicht oberhalb der Algen war wesentlich dünner (bei *Peltigera praetextata* nur 30 μ gegenüber 50 μ bei den Starklichtindividuen; Tabelle 2,

[1] Von den *Parmelien* mußten die Unterrinden entfernt werden, da sie schwarz sind und kein Licht durchlassen.

Spalte II). Die beiden Dickenzahlen bei *Peltigera praetextata* umfassen im übrigen schon fast die überhaupt gefundenen Werte der Dicken der Rindenschichten; sie ging bei keiner der untersuchten Arten über 50 μ hinaus, blieb aber in einigen Fällen (*Lobaria amplissima* 25 μ, *Anaptychia ciliaris* 20 μ) etwas darunter.

Mit zunehmender Meereshöhe traten die Merkmale der Sonnenformen noch stärker hervor, da dabei auch die Intensität des Sonnenlichtes

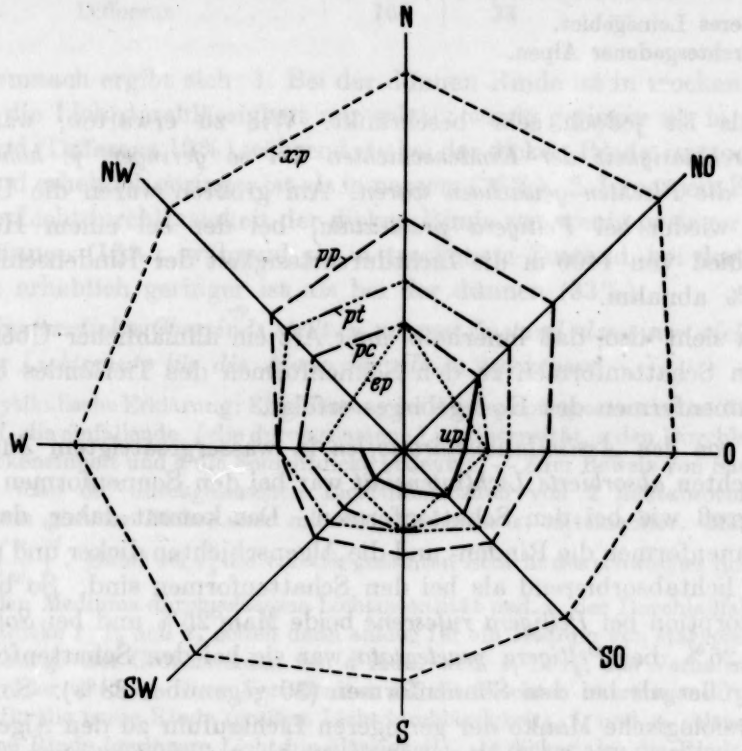


Abb. 5. Lichtdurchlässigkeit von Flechten, die an freistehenden Steinen und Bäumen in verschiedener Himmelsrichtung gewachsen waren. Je stärker die Durchlässigkeit ist, desto weiter entfernt vom Mittelpunkt der Figur sind die Werte der Arten auf den Radien abgetragen; 2 mm in der Figur entsprechen 1 % durchgelassener Lichtintensität. *Umbilicaria pustulata* (*up*), *Evernia prunastri* (*ep*), *Parmelia caperata* (*pc*), *Parmelia tiliacea* (*pt*), *Parmelia physodes* (*pp*), *Xanthoria parietina* (*xp*).

etwas zunimmt. Vielleicht hat außerdem noch die Qualität des Lichtes einen Einfluß; denn im Gebirge überwiegen im Gegensatz zum Tiefland das parallele Sonnenlicht und die kürzerwelligen Strahlen stark gegenüber dem diffusen Himmelslicht und den längerwelligen Strahlen. Für den Unterschied der Sonnenformen des Gebirges und des Tieflandes konnte aber nur die Lichtdurchlässigkeit der oberen Rindenschichten ermittelt werden (Tabelle 6). Denn da die von den ganzen Thalli der Sonnenformen durchgelassenen Lichtintensitäten ohnehin gering waren, waren hier die Unterschiede zu undeutlich. Die Menge des untersuchten

Tabelle 6. *Relativer Lichtgenuß* (% des auffallenden Lichtes) *der Algen von Flechten sonniger Standorte aus verschiedener Meereshöhe* (Flechten wassergesättigt).

	Meereshöhe des Standorts in m			
	200[1]	800[2]	1600[2]	2250[2]
Peltigera praetextata	70	65	55	—
Peltigera rufescens	64	60	55	—
Cetraria islandica	—	60	53	53

[1] Oberes Leinegebiet.
[2] Berchtesgadener Alpen.

Materials ist jedoch sehr beschränkt. Wie zu erwarten, war die *Lichtdurchlässigkeit der Rindenschichten um so geringer, je höher im Gebirge die Flechten gewachsen waren.* Am größten waren die Unterschiede wieder bei *Peltigera praetextata*, bei der bei einem Höhenunterschied von 1400 m die Lichtdurchlässigkeit der Rindenschichten um 15% abnahm.

Man sieht also, daß innerhalb einer Art ein allmählicher Übergang von den Schattenformen zu den Sonnenformen des Tieflandes bis zu den Sonnenformen des Hochgebirges erfolgt.

Die *von den Assimilationsfarbstoffen* in wassergesättigtem Zustand der Flechten *absorbierte Lichtintensität* war bei den Sonnenformen etwa ebensogroß wie bei den Schattenformen. Das kommt daher, daß bei den Sonnenformen die Rinden- und die Algenschichten dicker und daher stärker lichtabsorbierend als bei den Schattenformen sind. So betrug die Absorption bei *Peltigera rufescens* beide Male 25% und bei *Solorina saccata* 26%, bei *Peltigera praetextata* war sie bei den Schattenformen sogar größer als bei den Sonnenformen (30 gegenüber 28%). So wird das physiologische Manko der geringeren Lichtzufuhr zu den Algen bei den Sonnenformen durch die größere Dicke der Assimilationsschicht ungefähr wieder ausgeglichen.

Lichtschutz. Zu starkes Licht wirkt zerstörend auf das Chlorophyll. Da nun bei vielen Pflanzen an sonnigen Standorten Besonderheiten auftreten, so werden diese Folgen des starken Lichtes vielfach als Lichtschutz für das Chlorophyll angesehen. Schon WIESNER (1876) hat eine Anzahl derartiger Einrichtungen beschrieben und auch in neuerer Zeit ist die Notwendigkeit eines solchen Lichtschutzes wiederholt hervorgehoben und in einigen Fällen auch begründet worden (SCHANDERL 1931 und dort angeführte Literatur). Für die Flechten kann diesen Schutz allein die Oberrinde übernehmen (ZUKAL 1896, STOCKER 1927).

Vergleicht man in Tabelle 2 die von den verschieden dicken Flechtenrinden gleicher Arten durchgelassenen Lichtintensitäten, so findet

man z.B. für die Lichtdurchlässigkeiten der Oberrinden von *Peltigera praetextata:*

	Naß %	Trocken %	Differenz
Dünne Rinde . . .	73	54	19
Dicke Rinde	57	21	36
Differenz	16	33	—

Demnach ergibt sich: 1. Bei der dünnen Rinde ist in trockenem Zustand die Lichtdurchlässigkeit nur relativ wenig geringer als in nassem Zustand (Differenz 19%),während sie bei der dicken Rinde in trockenem Zustand erheblich geringer ist als in nassem (36%). 2. In nassem Zustand ist die Lichtdurchlässigkeit der dicken Rinde nur wenig geringer als die der dünnen (16%), während sie in trockenem Zustand bei der dicken Rinde erheblich geringer ist als bei der dünnen (33%).

Eine verdickte Oberrinde stellt in nassem Zustand also einen viel schwächeren Lichtschutz für die Algen dar als in trockenem.

Physikalische Erklärung: Eine Fassung des Absorptionsgesetzes lautet $I = I_0 \cdot x^d$, wobei I_0 die einfallende, I die durchgelassene Lichtintensität, x den Durchlaßfaktor der Dickeneinheit und d die Schichtdicke bedeutet. — Zum Beweis von Satz 1 vergleicht man die durchgelassenen Lichtintensitäten von 2 lichtabsorbierenden Schichten gleicher Dicke, aber mit verschiedenem x, miteinander. Man erhält $\frac{I_1}{I_2} = \left(\frac{x_1}{x_2}\right)^d$. Dabei sei I_1 die von der gesamten Schicht des schwächer lichtabsorbierenden Mediums durchgelassene Lichtintensität und x_1 der Durchlaßfaktor der Schichtdicke 1; I_2 und x_2 gelten dann analog für ein Medium von stärkerer Lichtschwächung. Bei Größerwerden von d muß, weil $x_1 > x_2$, das Verhältnis $I_1 : I_2$ auch größer werden. Diese Verhältnisse auf die Flechten übertragen: I_1 und x_1 gelten für die nasse Rinde (größere Lichtdurchlässigkeit), I_2 und x_2 gelten für die trockene Rinde (geringere Lichtdurchlässigkeit). Je dicker also die Rinde ist, um so größer ist der Unterschied der von ihnen in trockenem und nassem Zustand durchgelassenen Lichtintensitäten. — Satz 2 ergibt sich aus dem Absorptionsgesetz $I = I_0 \cdot x^d$. Weil bei der nassen Rinde x groß ist, so wird I bei Größerwerden von d nur langsam kleiner. Weil bei der trockenen Rinde x aber klein ist, so wird I bei Größerwerden von d schnell kleiner.

Wasserhaushalt. Seit Stocker (1927) weiß man, daß der Wasserhaushalt der Flechten „rein physikalisch durch die Menge, Art und Anordnung der quellbaren Substanz der Hyphenwände" bedingt ist und in keiner Weise physiologisch geregelt wird. Denn im Gegensatz zu anderen Pflanzen speichern die Flechten ihren Wasservorrat nicht intrazellular in Plasma und Vakuolen, sondern extrazellular in Hyphenwänden und kapillar zwischen den Hyphen. „Die Algen kommen bei ihrem geringen Volumen als Wasserspeicher gar nicht in Betracht." Demnach geht bei den Flechten die Wasseraufnahme und -abgabe nach den gleichen Gesetzen vor sich wie bei allen anderen Quellkörpern (Agar usw.,

SMYTH 1934). Es müssen daher irgendwelche Unterschiede im Wasserhaushalt zwischen Sonnen- und Schattenindividuen allein von deren anatomischer Struktur abhängen. Um das zu prüfen, wurde im folgenden bei Sonnen- und Schattenformen gleicher Arten die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme beim Eintauchen und aus wasserdampfgesättigter Luft sowie die Geschwindigkeit der Wasserabgabe untersucht.

Die Wasseraufnahme aus wasserdampfgesättigter Luft wurde mit der in Kapitel B 1 b beschriebenen Methode gemessen. Die Geschwindigkeit der Aufnahme von flüssigem Wasser wurde so bestimmt, daß die trockenen Flechten 10 sec lang untergetaucht, dann abgetrocknet und gewogen wurden. Dies wurde bis zur Wassersättigung fortgesetzt. Die Wasserabgabe wurde durch Gewichtsmessungen der anfangs wassergesättigten Flechten an einer Torsionswaage in Abständen von je 20 min bestimmt.

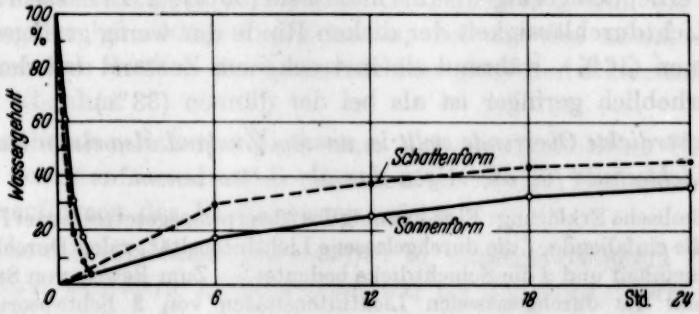


Abb. 6. Wasseraufnahme (rechte Kurven) aus wasserdampfgesättigter Luft bei 10° C und Wasserabgabe bei 18° C und relativer Luftfeuchtigkeit von 60% einer Sonnen- und Schattenform von *Peltigera praetextata*.

In Abb. 6 sind von *Peltigera praetextata* die aus wasserdampfgesättigter Atmosphäre aufgenommenen und die abgegebenen Wassermengen, die beide auf 100% Wassergehalt umgerechnet sind, eingetragen. Aufnahme und Abgabe des Wassers erfolgen bekanntlich als Exponentialfunktion. Bei den Sonnenformen gehen sie langsamer vor sich als bei den Schattenformen. So hatten die Sonnenformen nach eintägigem Aufenthalt in wasserdampfgesättigter Luft erst 36% ihres maximalen Wassergehaltes erreicht, die Schattenformen schon 45%. Hingegen waren beim Austrocknen die Schattenformen schon nach etwas über einer Stunde mit 4% Wassergehalt lufttrocken, die Sonnenformen hatten noch immer 12% ihres maximalen Wassergehalts. Die Werte für die Wasseraufnahme beim Eintauchen sind nicht dargestellt, da sie die gleichen Verhältnisse wiedergeben wie bei der Wasseraufnahme aus wasserdampfgesättigter Luft. Die Aufnahme des flüssigen Wassers geht nur sehr viel schneller vor sich. Es ergab sich bei den Messungen in 10 sec Abständen für *Peltigera praetextata* bei der Sonnenform ein Wassergehalt von 44, 58, 65, 73, 76 und 82%, bei der Schattenform von 55, 73, 80, 85, 89 und 94%.

Da die Sonnenindividuen aber dicker sind als die Schattenexemplare (bei *Peltigera praetextata* etwa 0,5 mm gegenüber 0,3 mm), ergibt sich aus einem Vergleich der Kurven hinsichtlich Wasseraufnahme und -abgabe eine einfache Abhängigkeit von dem Verhältnis Volumen zu Oberfläche der Flechte. Je geringer dieses Verhältnis ist, um so schneller sättigt sich die Flechte mit Wasser bzw. um so schneller gibt sie es wieder ab (alle diese Angaben gelten natürlich nur für Sonnen- und Schattenindividuen gleicher Arten).

Daß die Unterschiede tatsächlich rein physikalisch bedingt sind, kann man erkennen, wenn man die Versuche statt mit Flechten mit verschieden dicken Stücken Agar durchführt. Dann ergeben sich die gleichen Gesetzmäßigkeiten.

Die geringere Geschwindigkeit der Aufnahme dampfförmigen Wassers kann man für die Sonnenindividuen wohl als Vorteil gegenüber den Schattenindividuen ansehen. Denn dampfförmig aufgenommenes Wasser soll nach STOCKER (S. 409) zwar die Atmung steigern, die Flechten sollen damit aber nicht assimilieren können. Auch das langsamere Austrocknen der Sonnenindividuen ist für sie wohl ein Vorteil. Die geringere Geschwindigkeit der Aufnahme von flüssigem Wasser ist, da sie höchstens wenige Minuten bis zur Sättigung beträgt, gewiß belanglos.

C. Lichtmessungen in Laubblättern[1].

1. Lichtabsorption durch die Blattfarbstoffe.

Nachstehend soll versucht werden, den von den Blattfarbstoffen absorbierten Bruchteil der auf das Blatt auffallenden Lichtintensität zu bestimmen.

a) Bestimmung der Lichtabsorption der Farbstoffe in panaschierten Blättern aus den Lichtdurchlässigkeiten der weißen und der grünen Teile.

Bei dieser Art der Bestimmung der Lichtabsorption wird die Voraussetzung gemacht, daß der anatomische Bau der farblosen und der grünen Teile gleich ist. Daß dies tatsächlich zutrifft, hat LINSBAUER (1901) durch eine große Zahl von Untersuchungen nachgewiesen. Die Berechnung des von den Farbstoffen absorbierten Lichtes war hier umgekehrt wie bei den Flechten, da nicht der Absorptionsfaktor der Farbstoffe, sondern der des farblosen Blattgewebes gemessen wurde.

[1] Es sei ausdrücklich betont, daß die Messungen an den Laubblättern nur gemacht worden sind, um Vergleichswerte für die Flechten zu schaffen. Wenn dabei zum Teil Resultate erhalten wurden, die von früheren an Laubblättern abweichen, so soll darauf durchaus kein Gewicht gelegt werden. Es kam lediglich darauf an, mit gleicher Methode wie bei den Flechten Messungen an Laubblättern zu machen, so daß eventuelle methodische Mängel sich in gleichem Maß auf beide Objekte auswirken.

Tabelle 7. *Lichtabsorption durch das Chlorophyll in panaschierten Blättern, errechnet aus Durchlässigkeit und Streureflexion der weißen und der grünen Blatteile.*

I_w von der weißen Blattfläche durchgelassene Lichtintensität; R_w von der weißen Blattfläche zurückgeworfene Lichtintensität; w Absorptionsfaktor der weißen Blattfläche; I_g von der grünen Blattfläche durchgelassene Lichtintensität; R_g von der grünen Blattfläche zurückgeworfene Lichtintensität; f Absorptionsfaktor der Farbstoffe; A_f von den Farbstoffen absorbierte Lichtintensität.

	Weiße Blattfläche			Grüne Blattfläche			
	I_w %	R_w %	w	I_g %	R_g %	f	A_f %
Pelargonium zonale, Mme SALLEREY . .	39	24	0,42	16	17	0,53	37
Pelargonium zonale, Freak of Nature . .	25	28	0,55	8	17	0,60	43
Dracaena sanderiana	34	25	0,47	18	16	0,47	33
Aglaonema costatum	25	25	0,57	9	20	0,51	34
Aucuba japonica	20	23	0,64	8	18	0,47	30
Ficus australis	20	18	0,68	4	12	0,66	41
Peristrophe salicifolia aureivariegata . .	32	21	0,53	8	8	0,74	48
Evonymus angustifolia	22	21	0,64	3	13	0,72	44
Coleus hybridus	34	30	0,42	28	10	0,42	29
Abutilon striatum	28	18	0,59	6	10	0,70	46

Außerdem mußte noch die Streureflexion gemessen werden, da diese bei den weißen Blattflächen sehr stark ist, vor allem stärker als bei den grünen.

Der Absorptionsfaktor der *farblosen* Blattfläche und demgemäß des farblosen Blattgewebes der grünen Blatteile w ist annähernd $\frac{A_w}{I_o - \frac{R_w}{2}}$*. Dabei ist I_o die auf die weiße Blattfläche auffallende und A_w die von ihr absorbierte, R_w die von ihr zurückgeworfene Lichtintensität; $A_w = I_o - R_w - I_w$, wobei I_w die von der weißen Blattfläche durchgelassene Lichtintensität bedeutet.

Die *grüne* Blattfläche hat als Absorptionsfaktor g angenähert die Formel $\frac{A_g}{I_o - \frac{R_g}{2}}$. Dabei ist I_o wieder die auf die grüne Blattfläche auffallende, R_g die von ihr zurückgeworfene und A_g die von ihr absorbierte Lichtintensität; $A_g = I_o - R_g - I_g$, wobei I_g die von der grünen Blattfläche durchgelassene Lichtintensität bedeutet.

Der Absorptionsfaktor der Farbstoffe $f = \frac{g - w}{1 - w}$, und die Absorption der Farbstoffe im Blatt $A_f\,\% = \frac{A_g \cdot f \cdot 100}{I_o\,(w + f)}$.

Die Ergebnisse der Messungen sind in Tabelle 7 zusammengestellt. Die Absorption der Farbstoffe (unter der Bezeichnung A_f), die aus den

* Der Absorptionsfaktor einer absorbierenden Schicht ist das Verhältnis aus der von ihr absorbierten und der in sie eindringenden Lichtintensität. In einen spiegelnden Körper (Glas) dringt die Lichtintensität $I_0 - R$ ein. In diffus reflektierende Körper dringt fast das ganze I_0 ein. Da sich deren Streureflexion aber aus der Reflexion sämtlicher Massenpunkte zusammensetzt, wurde die in das Blatt eindringende Lichtintensität $I_o - \frac{R}{2}$ gesetzt.

gemessenen Werten errechnet wurde, schwankt gemäß dem ganz verschiedenen Bau der Blätter und der Menge der Farbstoffe in weiten Grenzen. Sie beträgt bei *Coleus hybridus* nur 29%, bei *Peristrophe salicifolia aureivariegata* 48%. Die Werte der übrigen untersuchten Arten liegen dazwischen. Im Durchschnitt betrug die Absorption der Farbstoffe bei den untersuchten Arten etwa 40% der auf das Blatt auffallenden Lichtintensität.

b) Bestimmung der Lichtabsorption der Farbstoffe im Blatt durch deren Extraktion.

Die Lichtabsorption der Farbstoffe im Blatt wurde nach der gleichen Methode wie bei den Flechten bestimmt (Kap. B 2). Es wurden also die Farbstoffe aus den Blättern mittels Alkohol extrahiert und die Lösungen in einer Küvette durchleuchtet. Weil es aber fraglich ist, ob diese Methode überhaupt brauchbare Werte liefert, da in den Lösungen für das Chlorophyll unnatürliche Verhältnisse vorliegen, wurden zum Vergleich zuvor noch Messungen an den gleichen Objekten wie im vorhergehenden Kapitel durchgeführt — natürlich nur an den grünen Blatteilen. Weil die panaschierten Blätter unverändert durchleuchtet wurden, lagen dort natürliche Verhältnisse vor.

Bei diesen Vergleichsmessungen ging die Berechnung der Lichtabsorption folgendermaßen vor sich:

Bezeichnet man die von der Küvette mit Alkohol durchgelassene Lichtintensität mit I, die von der Küvette mit der Farbstofflösung durchgelassene mit I_f, dann ist der Absorptionsfaktor der Farbstoffe $f = \frac{I - I_f}{I}$.

Der Absorptionsfaktor der grünen Blatteile $g = \frac{A_g}{I_o - \frac{R_g}{2}}$. Dabei ist I_o die auf das Blatt auffallende, A_g die von ihm absorbierte und R_g die von ihm zurückgeworfene Lichtintensität; $A_g = I_o - R_g - I_g$, wobei I_g die vom Blatt durchgelassene Lichtintensität bedeutet.

Der Absorptionsfaktor der farblosen Blattsubstanz $w = \frac{g - f}{1 - f}$.

Die Absorption der Farbstoffe im Blatt

$$A_f\% = \frac{A_g \cdot f \cdot 100}{I_o\,(w + f)}.$$

Die gefundenen Werte sind in Tabelle 8 zusammengestellt. Die Objekte sind die gleichen wie in Tabelle 7. Ein Vergleich der Werte der Absorption der Farbstoffe in beiden Tabellen unter der Bezeichnung A_f zeigt, daß die Unterschiede nur sehr gering sind. Bei *Dracaena sanderiana* stimmen die beiden Werte sogar überein; aber das ist vielleicht Zufall. Der größte relative Unterschied besteht bei *Aucuba japonica* (31% in Tabelle 7 gegenüber 35% in Tabelle 8); der relative Fehler beträgt hier 11%. Man kann demnach sagen, daß die Bestimmung

Tabelle 8. *Lichtabsorption durch die Farbstoffe in panaschierten Blättern, errechnet aus Durchlässigkeit und Streureflexion der grünen Blatteile sowie Durchlässigkeit alkoholischer Farbstofflösungen.*

I_g von der grünen Blattfläche durchgelassene Intensität; R_g von der grünen Blattfläche zurückgeworfene Intensität; I_f von der Farbstofflösung durchgelassene Intensität; A_f von den Farbstoffen absorbierte Intensität.

	I_g %	R_g %	I_f %	A_f %
Pelargonium zonale, Mme SALLEREY .	16	17	44	39
Pelargonium zonale, Freak of Nature .	8	17	30	42
Dracaena sanderiana	18	16	54	33
Aglaonema costatum	9	20	53	32
Aucuba japonica	8	18	54	35
Ficus australis	4	12	38	40
Peristrophe salicifolia aureivariegata .	8	8	37	45
Evonymus angustifolia	3	13	39	41
Coleus hybridus	28	10	63	28
Abutilon striatum	6	10	43	42

der Lichtabsorption der Farbstoffe durch deren Extraktion für Blätter und Flechten geeignet ist.

Um aber Werte anzugeben, die mit den Flechten vergleichbar sind, mußten noch einige Messungen durchgeführt werden, die die Absorption der Epidermen berücksichtigen und die Streureflexion der Blätter vernachlässigen.

Die Berechnung der Lichtabsorption ging folgendermaßen vor sich:

Der Absorptionsfaktor der Farbstoffe $f = \frac{I - I_f}{I}$. Dabei ist I die von der Küvette mit Alkohol und I_f die von der Küvette mit der Lösung durchgelassene Lichtintensität.

Der Absorptionsfaktor des Blattes $g = \frac{A_g}{I_o \cdot L}$. Dabei ist I_o die auf das Blatt auffallende, A_g die von ihm absorbierte Lichtintensität, L die Lichtdurchlässigkeit der Epidermis; $A_g = I_o \cdot L - I_g$, wobei I_g die vom Blatt durchgelassene Lichtintensität bedeutet.

Der Absorptionsfaktor der weißen Blattsubstanz w ist $w = \frac{g - f}{1 - f}$.

Dann ist die Absorption der Farbstoffe im Blatt

$$A_f\,\% = \frac{A_g \cdot f \cdot 100}{I_o\,(w + f)}.$$

Solche Messungen sind in Tabelle 9 zusammengestellt; die Absorption der Farbstoffe steht in der Spalte A_f. Es sind insgesamt 18 Pflanzen verschiedener Ökotypen untersucht worden. Bis auf *Euphorbia* (Lichtdurchlässigkeit der Epidermis 49%) waren die Epidermen nur wenig lichtschwächend (Lichtdurchlässigkeit etwa 90—95%). Trotzdem ist die Lichtabsorption bei den einzelnen Objekten doch sehr verschieden. Im Durchschnitt betrug sie etwa 35—40% der auf das Blatt auffallenden Lichtintensität. In den äußersten Fällen war sie 28% *(Coleus hybridus)* und 43% (*Pelargonium zonale*, Freak of Nature), bei *Euphorbia* 23%.

Tabelle 9. *Lichtabsorption in Laubblättern.*

L von der Epidermis durchgelassene Lichtintensität; I_g vom Blatt durchgelassene Lichtintensität; I_f von der Farbstofflösung durchgelassene Lichtintensität; A_f von den Farbstoffen absorbierte Lichtintensität.

	L %	I_g %	I_f %	A_f %
Pelargonium zonale, Mme Sallerey	96[1]	16	44	39
Pelargonium zonale, Freak of Nature	95[1]	8	30	43
Dracaena sanderiana	88	17	54	29
Aglaonema costatum	92	9	53	31
Aucuba japonica	89	9	54	39
Ficus australis	87	4	38	35
Peristrophe salicifolia aureivariegata	90	8	37	37
Evonymus angustifolia	89	3	39	35
Coleus hybridus	96[1]	28	3	28
Abutilon striatum	90	6	43	34
Helleborus orientalis	87	10	36	37
Berberis buxifolia	90	5	35	38
Dipsacus laciniatus	91	7	29	42
Arbutus unedo	89	8	31	40
Acer pseudoplatanus	90	9	34	39
Fagus silvatica,				
Schattenblatt	92	11	45	35
Sonnenblatt	86	7	30	39
Robinia pseudacacia,				
Schattenblatt	93	13	41	38
Sonnenblatt	87	6	29	42
Euphorbia sp.	49	4	28	23

[1] Geschätzt.

2. Sonnen- und Schattenblätter.

Durch die nachstehenden Versuche soll der Einfluß des Lichtgenusses der Pflanzen auf die Größe der Lichtabsorption der Farbstoffe im Blatt festgestellt werden. Da Wassermangel ebenso wie verstärkter Lichtgenuß Sonnenblattform hervorruft (Huber 1926, Söding 1934), so wurde außer der Lichtintensität auch die Bodenfeuchtigkeit variiert.

Je 3 Exemplare von *Atriplex patulum*, *Linum vulgare*, *Sinapis alba*, *Stellaria media*, *Triticum vulgare* und *Vicia faba* wurden unter folgenden Bedingungen aufgezogen: 1. starkes Licht und trocken, 2. starkes Licht und reichlich Wasser, 3. schwaches Licht und trocken, 4. schwaches Licht und reichlich Wasser. Die gut belichteten Pflanzen wuchsen in vollem Tageslicht auf, die wenig belichteten standen unter einem Papierkasten, unter dem sie 10% des Lichtes der frei wachsenden Pflanzen erhielten. Die trocken gehaltenen Pflanzen erhielten nur so viel Wasser, daß sie eben nicht vertrockneten.

Die Lichtabsorption der Farbstoffe wurde wie im vorstehenden Kapitel bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 zusammengestellt. Die stärkst transparenten Blätter wiesen die Pflanzen der Kultur „feucht, schwaches Licht“ auf. Die Epidermen waren sehr wenig licht-

Tabelle 10. *Lichtabsorption in Sonnen- und Schattenblättern bei Aufzucht bei verschiedener Bodenfeuchtigkeit.*

I_g vom Blatt durchgelassene Lichtintensität; I_f von der Farbstofflösung durchgelassene Lichtintensität; L von der Epidermis durchgelassene Lichtintensität; A_f von den Farbstoffen absorbierte Lichtintensität.

Name	Außenfaktoren															
	Feucht, starkes Licht				Feucht, schwaches Licht				Trocken, starkes Licht				Trocken, schwaches Licht			
	L %	I_g %	I_f %	A_f %	L %	I_g %	I_f %	A_f %	L %	I_g %	I_f %	A_f %	L %	I_g %	I_f %	A_f %
Atriplex patulum	95	14	42	34	95	19	60	28	92	10	35	40	95	16	54	32
Linum vulgare .	95	17	53	32	95	17	70	23	90	9	49	32	—	—	—	—
Sinapis alba . .	93	15	44	36	95	19	64	32	89	10	29	42	90	16	50	33
Stellaria media .	95	19	53	33	97[1]	20	68	24	95	8	36	38	95[1]	19	64	26
Triticum vulgare .	92	20	60	28	—	—	—	—	92	10	44	34	—	—	—	—
Vicia faba . . .	91	14	48	33	95	24	73	21	90	9	41	36	95	17	64	26

[1] Geschätzt.

absorbierend, die Chlorophyllmenge gering. Die durch das Chlorophyll absorbierten Lichtintensitäten waren entsprechend niedrig (im Durchschnitt 26%). Verstärkter Lichtgenuß und Trockenheit verändern die optischen Eigenschaften der Blätter stark. Die Blätter der Pflanzen aus den Kulturen „trocken, starkes Licht" ließen am wenigsten Licht durch. Ihre Lichtdurchlässigkeit mit im Durchschnitt 9% betrug noch weniger als die Hälfte der Lichtdurchlässigkeit der feucht und bei schwachem Licht kultivierten Gruppe. Die Lichtabsorption in der Epidermis war hier am stärksten und die Chlorophyllmenge am größten, und auch die Lichtabsorption durch das Chlorophyll war hier am höchsten (im Durchschnitt 37%). Die Werte der Gruppen „feucht, starkes Licht" und „trocken, schwaches Licht" lagen dazwischen oder stimmten mit denen der beiden Gruppen überein; niemals aber lag ein Wert extremer.

Verstärkter Lichtgenuß und Trockenheit haben also Sonnenblattform hervorgerufen. Das starke Licht veränderte aber, wie ein Vergleich der beiden feucht und der trocken gehaltenen Kulturen sowie ein Vergleich der beiden gut und der schlecht beleuchteten Kulturen zeigt, die Blätter stärker als die Trockenheit. — Aus den Versuchen geht wohl eindeutig hervor, *daß bei Sonnenblättern die Lichtabsorption durch das Chlorophyll größer ist als bei Schattenblättern.*

II. Besprechung der Ergebnisse.

In den vorstehenden Versuchen ist versucht worden, die Lichtverhältnisse in Flechten darzustellen und einen Vergleich mit denen in Laubblättern zu ziehen. Der Anlaß dazu war die allgemeine Ansicht, daß die Lichtverhältnisse im Flechtenthallus sehr schlecht wären und

die Algen dadurch in ihrer Assimilationstätigkeit stark behindert würden (vgl. Tobler 1925 und dort angeführte Literatur). Denn infolge der durch die Mehrschichtigkeit der oberen Rindenschichten, die außerdem den größten Teil der Exkrete enthalten (Zopf 1907), verursachten starken Lichtschwächung und infolge der geringen Chlorophyllmenge in der Algenschicht würden die Flechten das Licht nur sehr schlecht ausnützen können.

Diese zunächst noch rein anatomischen Schlüsse wurden von Zukal (1896) und Ellée (1938) durch Lichtmessungen auch scheinbar bestätigt (s. S. 245, 248).

Bei den eigenen Untersuchungen hat sich aber gezeigt, daß die Lichtschwächung durch die obere Rindenschicht wesentlich geringer ist, als aus den früheren Messungen geschlossen worden war. Die Lichtdurchlässigkeit der farblosen Rindenschichten betrug bei Wassersättigung etwa 70%, die der gefärbten etwa 50%. Ein Vergleich mit den Laubblättern einheimischer Mesophyten zeigt, daß die Lichtdurchlässigkeit der Rindenschichten zwar etwas geringer ist als die der Epidermen, aber nicht, wie die früheren Messungen ergaben, nur einen kleinen Bruchteil derselben beträgt. Denn die Lichtdurchlässigkeit der Epidermen der einheimischen Mesophyten beträgt im Durchschnitt etwa 90%. Da manche Mesophyten und die meisten Xerophyten über der Epidermis noch eine Wachsschicht haben, manche Xerophyten (Kakteen usw.) außerdem eine subepidermale Kollenchymschicht, die das Licht meist mehr schwächen als die Epidermis selber [Lichtdurchlässigkeit der Epidermis von *Cotyledon undulata* 15% (Schanderl und Kaempfert 1933)], kann man also sagen, *daß der relative Lichtgenuß der Flechtenalgen im allgemeinen ebensogroß oder nur wenig geringer ist als der der Chloroplasten der höheren Pflanzen.*

Die *Lichtabsorption durch das Chlorophyll* in der Algenschicht ist trotz der geringen Chlorophyllmenge nur wenig geringer als in Laubblättern. Denn erstens wird die Hauptmenge des Lichtes bereits in den vordersten Chlorophyllschichten absorbiert, weshalb eine noch so starke Vergrößerung der Chlorophyllmenge die Lichtabsorption nur unwesentlich erhöhen kann. Das läßt sich aus dem Absorptionsgesetz, nach welchem bei arithmetischer Zunahme der Schichtdicke eine geometrische Zunahme der Lichtabsorption erfolgt, ohne weiteres errechnen. Daß das Absorptionsgesetz für Laubblätter genau so wie für alle anderen lichtabsorbierenden Körper gilt, hat Seybold (1932b) nachgewiesen. Die größere Chlorophyllmenge in den Laubblättern wird im Verhältnis zu den Flechten daher schlechter ausgenützt. Der zweite Grund für die relativ günstigen Verhältnisse bei den Flechten ist der, daß der Absorptionsfaktor des farblosen Gewebes der Flechtenalgenschicht, das ist die Absorption des farblosen Gewebes der Algenschicht bei Einstrahlung

von 1 Energieeinheit, wesentlich geringer ist als der Absorptionsfaktor des farblosen Gewebes des Assimilationsparenchyms eines Blattes. Er betrug bei den Flechten etwa 20%, bei den Laubblättern etwa 50%. Je geringer aber der Absorptionsfaktor des farblosen Gewebes ist, um so größer muß die Absorption der Farbstoffe werden. — Die Lichtabsorption durch die Assimilationsfarbstoffe betrug in den Flechten etwa 25%, in den Laubblättern etwa 35—40%. Es ergibt sich also, *daß die Lichtverhältnisse im Flechtenthallus im Vergleich zu den Laubblättern nur wenig ungünstiger liegen.* Es kann demnach für die beschränkte assimilatorische Leistungsfähigkeit der Flechtenalgen ein eventueller Lichtmangel nur zu einem geringen Teil verantwortlich gemacht werden.

Die Ergebnisse der Lichtmessungen in Laubblättern weichen zwar von denen anderer Autoren zum Teil etwas ab. Denn die Lichtabsorption durch das Chlorophyll in Laubblättern wurde fast durchwegs größer gemessen (von SEYBOLD 1932a, b mit 70—80%) bzw. größer eingeschätzt (WILLSTÄTTER und STOLL 1918). Für den Vergleich mit den Flechten ist das jedoch gleichgültig, da die Messungen bei den Flechten auf die gleiche Weise wie bei den Laubblättern durchgeführt wurden.

Tatsächlich ungünstig jedoch liegen die Lichtverhältnisse bei trockenen Flechten. Denn bei ihnen fällt auf die Flechtenalgen nur etwa der 3. Teil derjenigen Lichtintensität, die in nassem Zustand auf sie fällt. Da aber die Flechten bei starkem Wasserentzug nicht mehr assimilieren, das Licht den Flechtenalgen also nichts mehr nützt, kann man dann von „Lichtgenuß" überhaupt nicht mehr sprechen. *Die starke Lichtschwächung durch die Oberrinde ist für die Flechtenalgen vielleicht sogar von Vorteil (Lichtschutz).*

Da die Lichtverhältnisse in Flechten und Laubblättern von ihrem anatomischen Bau und der Menge der Farbstoffe abhängen, geht mit der verschiedenen Ausbildung an *verschiedenen Standorten* auch eine Veränderung der optischen Eigenschaften vor sich. Was die Lichtabsorption durch das Chlorophyll in Flechten angeht, so ist sie in Sonnen- und Schattenformen gleicher Arten bei angenommen gleicher einfallender Lichtintensität ungefähr gleich. So war sie bei 2 der untersuchten Flechten bei den Sonnen- und Schattenformen gleich groß (25 bzw. 26%), einmal war sie bei der Schattenform sogar größer als bei der Sonnenform (30 gegenüber 28%). Das untersuchte Material war hier jedoch sehr beschränkt. Bei Sonnenblättern ist die Absorption durch das Chlorophyll jedoch größer als bei den Schattenblättern. Sie betrug bei den untersuchten feucht gehaltenen Exemplaren im Durchschnitt 33 gegenüber 26%, bei den untersuchten Trockenexemplaren im Durchschnitt 37 gegenüber 29%. Während nämlich bei den Flechten die stärkere Lichtabsorption in der Algenschicht der auf sonnigem Standort gewachsenen Flechten durch die stärkere Lichtabsorption in der Rinden-

schicht ungefähr wieder ausgeglichen wird, überwiegt bei den Sonnenblättern die Zunahme der Lichtabsorption durch das Chlorophyll über die nur sehr geringe Zunahme der Lichtabsorption durch die Epidermis. *Die Sonnenformen der Flechten sind demnach durch ihre dickere obere Rindenschicht hinsichtlich der Lichtabsorption durch das Chlorophyll gegenüber den Sonnenblättern ein wenig im Nachteil.*

Zusammenfassung.

Der relative Lichtgenuß der Flechtenalgen der wassergesättigten Flechten beträgt bei Flechten mit farbloser Oberrinde etwa 70% (bei den untersuchten Arten zwischen 55 und 76%), bei Flechten mit gefärbter etwa 50% (46—64%). Beim Austrocknen der Flechten nimmt er etwa linear mit dem Wassergehalt ab und sinkt bei den trockenen Flechten auf etwa 20% (12—36%). — In verschiedenen Zonen des Thallus ist er verschieden; bei den Flechten mit farbloser Oberrinde ist er in den Randteilen am größten, bei den Flechten mit gefärbter in der Mitte.

Die Assimilationsfarbstoffe in den wassergesättigten Flechten absorbieren etwa 25% der auf die Oberfläche der Flechten auffallenden Lichtintensität, die Assimilationsfarbstoffe von Laubblättern etwa 40%; bei Blättern mit stärker lichtschwächender Epidermis ist sie entsprechend geringer.

Bei den Sonnenformen der Flechten ist der relative Lichtgenuß der Algen geringer als bei den Schattenformen; er ist auch um so geringer, je höher im Gebirge die Flechten wachsen. — Die dickere Rindenschicht der Sonnenformen der Flechten gewährt deren Algen in nassem Zustand nur einen geringen Lichtschutz, in nassem Zustand einen viel stärkeren. Die Sonnenformen nehmen das Wasser langsamer auf als die Schattenformen und geben es langsamer wieder ab. — Die von den Assimilationsfarbstoffen der Algenschicht absorbierte Lichtintensität ist bei Sonnen- und Schattenformen gleicher Flechtenarten etwa gleich groß. Bei Sonnenblättern ist sie im Gegensatz zu den Flechten jedoch größer als bei Schattenblättern.

Herrn Professor Harder bin ich für die Anregung zu den Untersuchungen sowie für seine stete Unterstützung zu großem Dank verpflichtet.

Literatur.

Bitter, G.: Über die Variabilität einiger Laubflechten und über den Einfluß äußerer Bedingungen auf ihr Wachstum. Jb. Bot. **36**, 421 (1901). — Ellée, O.: Über die Kohlensäureassimilation der Flechten. Beitr. Biol. Pflanz. **26**, 250 (1938). Huber, B.: Ökologische Probleme der Baumkrone. Planta (Berl.) **2**, 476 (1926). — Lange, B.: Die Photoelemente und ihre Anwendung, Teil 2. Leipzig 1936. — Linsbauer, L.: Untersuchungen über die Durchleuchtung von Laubblättern. Beih. Bot. Cbl. **10**, 53 (1901). — Meyer, A.: The radiation and absorption of heat

by leaves. Amer. J. Sci., III. s. 45, 340 (1893). Zit. nach Ursprung 1903. — Sandstede, H.: Die Gattung *Cladonia*. Rabenhorsts Kryptogamenflora, Bd. 9. Die Flechten. IV. Abt. *Cladoniaceen* und *Umbilicariaceen*. Leipzig 1931. — Schanderl, H., u. W. Kaempfert: Über die Strahlungsdurchlässigkeit von Blättern und Blattgeweben. Planta (Berl.) 18, 700 (1932). — Seybold, A.: Über die optischen Eigenschaften der Laubblätter. I. Planta (Berl.) 16, 195 (1932). — Über die optischen Eigenschaften der Laubblätter. II. Planta (Berl.) 18, 479 (1932). — Smyth, E. S.: A contribution to the physiology and ecology of *Peltigera canina* and *Peltigera polydactyla*. Ann. of Bot. 48, 781 (1934). — Söding, H.: Über die Bedingungen für die Entstehung der Sonnenblätter. Ber. dtsch. bot. Ges. 52, 100 (1934). — Stocker, O.: Physiologische und ökologische Untersuchungen an Laub- und Strauchflechten. Ein Beitrag zur experimentellen Ökologie und Geographie der Flechten. Flora (Jena) 121, 334 (1927). — Tobler, F.: Biologie der Flechten. Berlin 1925. — Ursprung, A.: Die physikalischen Eigenschaften der Blätter. Bibliotheca Botanica, H. 60. 1903. — Über die Absorptionskurve des grünen Farbstoffes lebender Blätter. Ber. dtsch. bot. Ges. 36, 73 (1908). — Wiesner, J.: Die natürlichen Einrichtungen zum Schutze des Chlorophylls der lebenden Pflanze. Festschr. zur Feier des 25jährigen Bestehens der zool.-bot. Ges. Wien 1876. — Der Lichtgenuß der Pflanzen. Leipzig 1907. — Willstätter, R., u. A. Stoll: Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918. — Zopf, W.: Die Flechtenstoffe in chemischer, botanischer, pharmakologischer und technischer Beziehung. Jena 1907. — Zukal, H.: Morphologische und biologische Untersuchungen über die Flechten, III. Abhandlung. Sitzgsber. kais. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturw. Kl., Abt. I 105 (1896).

Planta, Bd. 39, S. 271—308 (1951).

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen.

ÜBER BEZIEHUNGEN ZWISCHEN BLÜTENBILDUNG IN VERSCHIEDENEN LICHT-DUNKELKOMBINATIONEN UND ATMUNGSRHYTHMIK BEI WECHSELNDEN PHOTOPERIODISCHEN BEDINGUNGEN

(UNTERSUCHUNGEN AN KALANCHOË BLOSSFELDIANA*.)

Von

JOSEF SCHMITZ.

Mit 26 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Januar 1951.)

I. Einleitung.

Um die photoperiodisch bedingte Blütenbildung der Pflanzen zu erklären, sind schon manche Theorien entwickelt worden (BÜNNING 1937, 1944, 1946, 1948, 1950; HAMNER 1940; HARDER, BODE und v. WITSCH 1942; LANG und MELCHERS 1943). Eine die Lang- wie Kurztagspflanzen umfassende Erklärung der Abhängigkeit der Blütenbildung von der Tageslänge gibt BÜNNING; er bringt bekanntlich die endogene Tagesrhythmik der Pflanzen in Beziehung zu den photoperiodischen Verhältnissen. Nun konnten aber HARDER und GÜMMER (1949) zeigen, daß BÜNNINGS Theorie in vielen Fällen nicht zur Erklärung der bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* unter verschiedenen Beleuchtungsrhythmen beobachteten Blütenbildung ausreicht. Dabei war die Zahl der Licht-Dunkelkombinationen, die HARDER und GÜMMER angewandt haben, aber noch relativ gering. Daher wurde im ersten Teil der vorliegenden Arbeit erneut die Blütenbildung unter zahlreichen Hell-Dunkelrhythmen bei *Kalanchoë* geprüft, um die Gesetzmäßigkeiten der Blütenbildung weiter kennenzulernen und um Stellung zu BÜNNINGS Theorie zu nehmen.

Der zweite Teil der Untersuchungen beschäftigt sich mit der Atmung von *Kalanchoë*. Nach BÜNNINGS Theorie soll bei den chemischen Abläufen in der Zelle, die letzten Endes die Grundlage der endogenen Rhythmik darstellen, auch die Atmung eine Rolle spielen. Es mußte daher geprüft werden, ob die Rhythmik der Atmung bei *Kalanchoë* zur Klärung des von den BÜNNINGschen Forderungen abweichenden Blühverhaltens dieses Objektes herangezogen werden kann.

* Dissertation der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät in Göttingen.

II. Experimenteller Teil.

A. Methodik.

1. Versuchsanordnung der Beleuchtungsrhythmen.

Die Pflanzen hatten, wenn sie in den Blühversuch kamen, im allgemeinen ein Alter von 6—9 Monaten; sie waren dann etwa 18—20 cm hoch und besaßen 15 bis 17 Blattpaare, die bis auf die obersten 10 entfernt wurden. Zu den Atmungsversuchen wurden 1—$1^1/_2$ Jahre alte Pflanzen von 25—30 cm Höhe verwandt. Durch frühzeitiges Ausbrechen der Achselknospen wurden alle Pflanzen unverzweigt gehalten. Bis zum Versuchsbeginn standen sie im Langtag oder im Kurztag mit Einschaltung von 1 Std Störungslicht in der Mitte der Nacht (HARDER, u. BODE 1943).

Die verschiedenen Beleuchtungsrhythmen wurden in einem Dunkelzimmer durchgeführt. Während der Lichtperiode standen die Pflanzen gruppenweise unter 500-Watt-Birnen, die so über den Pflanzen angebracht waren, daß 5—6 Gruppen mit je 5 Pflanzen unter einer Birne Platz fanden; in Gipfelhöhe der Pflanzen herrschten 4000—5000 Lux. Um die Temperatur konstant zu halten, hingen die Birnen in einer wassergekühlten Wanne; außerdem war das Ganze von weißem Fließpapier umgeben, um das diffuse Licht zu vermehren.

Während der Dunkelperiode standen die Gruppen unter lichtdichten Kästen. Die Temperatur war bei Tag und Nacht etwa 20° C, die Luftfeuchtigkeit betrug 60—70%. Die Pflanzen wurden den Beleuchtungsrhythmen so lange ausgesetzt, bis auch am letzten Exemplar jeder Gruppe die Blütenstandsanlagen mit bloßem Auge gerade erkennbar waren. Dann wurde die ganze Gruppe in den Langtag gestellt. Bei Hell-Dunkelkombinationen, in denen die Pflanzen nicht zum Blühen kamen, wurden sie mindestens 8 Wochen im Versuch gelassen und dann auch noch im Langtag weiter beobachtet. Bei starkem Blühimpuls genügen wenige Expositionstage, und die Blütenstandsanlagen werden nach 2—3 Wochen sichtbar.

2. Die Atmungsmessung.

Die Atmungsluft der Pflanzen wurde durch Barytlauge geleitet und ihr CO_2-Gehalt durch Bestimmung der Leitfähigkeit der Lauge ermittelt.

Durch Absorption der Kohlensäure ändert sich die Konzentration der Lauge und — wenn man einen kleinen Bereich betrachtet — linear damit die Leitfähigkeit. Das ist der reziproke Wert des Widerstandes. Dieser kann mit einer WHEATSTONEschen Brückenschaltung gemessen werden, deren Prinzip darin besteht, einen unbekannten Widerstand durch bekannte zu bestimmen. Die Methode ist in der Literatur schon mehrfach beschrieben (FRIEDMANN 1933, JANDER und PFUND 1934, BEILER und SCHRATZ 1937) und auch im hiesigen Institut mit Erfolg angewandt worden (FELDBACH 1938). Es genügt daher, nur auf einige Einzelheiten einzugehen.

Um die Genauigkeit der Walzenbrücke zu erhöhen, wurde an ihren beiden Enden je ein Widerstand eingebaut, der das 4,5fache des Eigenwiderstandes des Meßdrahtes betrug. Dadurch wird die Genauigkeit verzehnfacht (HOLBORN und KOHLRAUSCH 1916). Die Nulleinstellung mit dem Kopfhörer konnte durch den Kontakt des Meßdrahtes einer 1000teiligen Walzenbrücke auf $\pm$ 0,5 Skalenteile genau eingestellt werden. Da der Vergleichswiderstand in der Brücke 500 Ohm betrug, der Widerstand der Barytlauge aber verhältnismäßig gering war, wurde vor das Elektrolytgefäß ein Stöpselwiderstand geschaltet und bei Beginn der Messung so eingestellt, daß der Kontakt des Meßdrahtes am Anfang der Walzenbrücke lag. Wenn die Konzentration der Lauge durch die Absorption der Kohlensäure sank, ihr Widerstand also zunahm, so wanderte der Gleitkontakt ans Ende der Walzenbrücke. Um weiter messen zu können, wurde der Stöpselwiderstand

so verringert oder ganz ausgeschaltet, daß der Kontakt wieder am Anfang der Brücke lag. Als Stromquelle diente eine 10-Volt-Batterie, deren Strom durch einen Summer und einen Transformator mit dem Verhältnis 1:1 lief.

Die Luft, die bei einer Messung durch die Atmungskammern gesaugt wurde, wurde vorher durch Natronkalktürme CO_2-frei gemacht. Sie durchlief zur Kontrolle 2 Waschflaschen mit $Ba(OH)_2$ und gelangte mit 85—90% Feuchtigkeit in die Rezipienten mit den Pflanzen. Die Rezipienten standen in einem Wasserbade, dessen Temperatur durch ein $^1/_{10}{}^0$ C-Kontaktthermometer und eine Wasserkühlung konstant gehalten wurde. Die die Atmungskammern passierende Luft hatte nach Durchlaufen eines 3 m langen Schlauchstückes, das schon im Wasserbad lag, die Temperatur des Wassers. Als Rezipienten dienten 450 cm³ fassende Glaszylinder, die durch Gummistopfen verschlossen waren. Beim Durchleiten der Luft wurden Wirbelbildung und tote Räume durch eine siebartig durchlöcherte Glasspirale am Deckel und Boden des Gefäßes, die zur Zu- und Ableitung diente, ausgeschaltet.

Die zylindrischen Absorptionsgefäße mit der Lauge für die Atmungsluft waren 30 cm hoch und hatten einen Durchmesser von 3 cm. Sie wurden mit 50 cm³ einer n/40—n/50 Barytlauge gefüllt und durch einen Glasschliff, an dem die Elektroden befestigt waren, verschlossen. Durch Zusatz von 0,2 cm³ Isobutylalkohol bildete sich beim Durchleiten der Luft eine 20 cm hohe Schaumsäule, die eine vollkommene Absorption ermöglichte. Da die Leitfähigkeitsmessungen stark temperaturempfindlich sind, standen die Absorptionsgefäße in einem Wasserbad, dessen Temperatur ständig durch ein $^1/_{10}{}^0$ C-Thermometer kontrolliert wurde; Temperaturabweichungen wurden bei der Berechnung der Leitfähigkeit berücksichtigt. Jedes Absorptionsgefäß war mit einem aus zwei 10-Literflaschen gebildeten Aspirator verbunden, der die Luft durch das ganze System sog: nach jeder Messung wurde das Wasser mit einer Pumpe in die höher stehenden Flaschen gedrückt, so daß sie wieder voll saugfähig wurden.

Der Gang eines Versuches war folgendermaßen: Von den Pflanzen, die in einem bestimmten Beleuchtungsrhythmus standen, wurden am Ende der Lichtzeit die meistens 8—10 cm langen Sproßspitzen mit 4—5 Blattpaaren abgeschnitten. Die Stengel wurden mit ihrer unteren Schnittfläche in kleine Glaszylinder mit 4—5 cm³ Wasser so eingetaucht, daß die Blätter außerhalb des Zylinders am Stengel saßen. Nach Verschluß der Gefäße mit einem Gummistopfen kamen sie in die Rezipienten. Dann wurde, wie vor jeder weiteren Messung, während $^1/_4$ Std 7—8 Liter kohlensäurefreie Luft durch jede Atmungskammer geleitet, so daß sämtliche aus der Anfangsluft stammende bzw. ausgeatmete Kohlensäure entfernt wurde. Durch Kontrollversuche ergab sich, daß die Partialdruckänderungen von CO_2 und O_2 in den Atmungskammern so gering sind, daß sie keinen Einfluß auf die Atmungsrhythmik haben. Auch der durch das Abschneiden der Sproßspitzen hervorgerufene Wundreiz blieb ohne Wirkung[1]. Die Messungen erfolgten 3stündlich, wobei jeweils die Differenz zweier Leitfähigkeitswerte als Maß der Atmungsintensität diente.

Die Durchführung von O_2-Messungen und die Bestimmungen von Atmungsquotienten erfolgte auf manometrischem Wege mit HALDANE-BACROFTschen Blutgasmanometern. Als Atmungskammern dienten 300 cm³ fassende Erlenmeyerkolben, die mit einem Glasschliff an den Manometern befestigt waren. Kleinere Volumina waren bei der Art der Versuchsobjekte und der Dauer der Messungen nicht anwendbar. Die Temperaturschwankungen des Wasserbades, in dem die

[1] Das zeigte sich durch Atmungsmessungen, bei denen kleinere, dafür aber ganze Pflanzen in die Rezipienten kamen. Während des Versuches standen die Wurzeln dieser Pflanzen in Glasküvetten, die mit einem Gummistopfen verschlossen waren.

Atmungskolben hingen, wurden durch ein $^1/_{100}{}^0$ C-Kontaktthermometer und eine wassergekühlte Messingschlange kleiner als $^1/_{50}{}^0$ C gehalten. Ein Rührer verhinderte die Entstehung von Temperaturgefällen. Luftdruckänderungen konnten durch ein Kontrollmanometer nahezu ausgeschaltet werden. Der Fehler betrug bis 5%. Bei O_2-Messungen kamen in die Rezipienten in geeigneter Weise ohne Schädigung der Sproßspitzen 20 cm³ einer 5%igen KOH-Lösung. Die einzelnen Messungen wurden am Ende 3stündiger Intervalle vorgenommen, und die erhaltenen Werte ergaben mit einer Konstanten multipliziert die verbrauchte Sauerstoffmenge in Kubikzentimetern bzw. bei Messungen ohne KOH als Absorptionsflüssigkeit die Volumenunterschiede CO_2—O_2. Sämtliche Atmungswerte wurden in Milligramm je Stunde und auf 20 cm² Blattfläche berechnet.

Bevor die Atmungsmessung begann, wurden die Pflanzen 4—5 Tage lang den zu untersuchenden Licht-Dunkelrhythmen unter einer wassergekühlten 500-Watt-Birne ausgesetzt. Sie wurden der Birne soweit genähert, bis in Spitzenhöhe der Pflanzen 20000—25000 Lux herrschten. Die Dunkelzeiten verbrachten die Pflanzen unter lichtdichten Kästen.

Im ganzen wurden etwa 100 Atmungsversuche durchgeführt mit einer durchschnittlichen Länge von 48 Std. Die mit der Leitfähigkeitsapparatur vorgenommenen Nullpunktsermittlungen betrugen 12000.

B. Versuchsergebnisse.

1. Blütenbildung in verschiedenen Licht-Dunkelkombinationen.

Zahlreiche Licht-Dunkelrhythmen, denen *Kalanchoë Bloßfeldiana* bisher unterworfen wurde, waren Tageszyklen[1], d.h. die Dauer einer Licht- und einer Dunkelzeit betrug zusammen 24 Std. HARDER und GÜMMER (1949) untersuchten die Blütenbildung aber auch in kürzeren oder längeren Zyklen; meistens war die Zeit von einem bis zum nächsten Lichtbeginn dabei geringer als 24 Std, während die Zahl der geprüften Zyklen, die die 24stündige Tageslänge überschreiten, verhältnismäßig klein ist. Von Rhythmen mit einer Gesamtlänge von mehr als 24 bis 48 Std sind bisher nur die Hell-Dunkelwechsel 6:24[2], 6:30, 9:21, 9:24, 16:16 und 18:18 angewandt worden. Sie alle führten zum Blühen mit Ausnahme von 18:18. Hier galt es, durch umfangreiche Neukombinationen die Gesetzmäßigkeiten aufzudecken.

a) Vorversuche.

Im Herbst 1948 wurden zahlreiche Licht-Dunkelkombinationen mit 8stündiger Hell- und verschieden langer Dunkelzeit angesetzt. Die Pflanzen standen, wie oben angegeben, während der Lichtperiode unter 500-Watt-Birnen, jedoch damals noch ohne Wasserkühlung. Durch die Wärmeausstrahlung trat große Verzögerung der Blütenbildung ein. Diese mag mindestens zum Teil darauf beruhen, daß die Blätter der Pflanzen stark epinastisch reagierten und infolge dieser fast senkrechten Stellung sehr schlechten Lichtgenuß hatten. Die meisten Pflanzen blieben vegetativ. Makroskopisch erkennbare Infloreszenzanlagen erschienen nur in den Rhythmen 8:16 und 8:20, die ab 16. 9. den Beleuchtungswechsel erhielten, nach 40,8 bzw.

[1] Ein Zyklus ist die Dauer einer Hell- und einer Dunkelperiode.

[2] Die Dunkelzeiten sind immer unterstrichen.

49,2 Tagen (Tabelle 1, unterste Reihen). Die Tagestemperatur betrug in Spitzenhöhe der Pflanzen 32 ± 2°, die Nachttemperatur 24 ± 2°, die Luftfeuchtigkeit etwa 50%. Um die Epinastie in den folgenden Versuchen herabzusetzen oder gar auszuschalten, wurden Angaben von GOEBEL (1924) verwertet, nach denen die Hydratur der Pflanze für die Epinastie ausschlaggebend sein soll. Es zeigte sich dann auch, daß Erhöhung der Luftfeuchtigkeit und eine über den Pflanzen angebrachte, die Wärmestrahlen absorbierende Wasserschicht die Epinastie stark herabsetzen. Bei den folgenden Versuchen wurde daher immer mit Kühlung gearbeitet (s. Methodik).

b) Hauptversuche.

Versuch 1. Am 19. 8. 49 erhielten 45 Pflanzen 4- oder 8stündige Hell- und verschieden lange Dunkelperioden, und zwar in folgenden Rhythmen: 4:20, 4:28, 4:36, 4:44, 8:24, 8:28, 8:32, 8:36, 8:40. Die Rhythmen der 4stündigen Lichtzeit wurden unter der 500-Watt-Birne durchgeführt (in Spitzenhöhe 20000—25000 Lux); die Gruppen mit 8stündigen Hellperioden standen dagegen unter 2 wassergekühlten 100-Watt-Birnen; in deren Gipfelhöhe wurden 5000 Lux gemessen.

Tabelle 1. *Blütenbildung in Rhythmen mit 4- oder 8stündigen Hell- und verschieden langen Dunkelperioden.*

Hell-Dunkel-rhythmus	Versuchs-beginn	Sichtbar-werden der In-floreszenzen	Öffnen der ersten Blüte	Zahl der Blüten und Knospen am 30. 1. 50	Gestaltung des Blüten-standes
		Tage nach Versuchsbeginn			
4:20	19. 8. 49	23,2 ± 1	98,0 ± 2,1	116,6	normal
4:28	19. 8. 49	24,2 ± 0,8	98,2 ± 1	109,4	normal
4:36	19. 8. 49	28,6 ± 0,8	101,4 ± 2,8	112,0	normal
4:44	19. 8. 49	28,5 ± 0,5	98,6 ± 1,4	113,0	normal
8:24	19. 8. 49	25,8 ± 1,3	100,6 ± 2,3	126,2	normal
8:28	19. 8. 49	26,2 ± 1,1	102,2 ± 1,1	129,0	normal
8:32	19. 8. 49	28,4 ± 0,6	106,8 ± 1,2	124,0	normal
8:36	19. 8. 49	28,6 ± 0,8	103,8 ± 1,6	117,4	normal
8:40	19. 8. 49	28,8 ± 0,5	99,8 ± 1,4	122,2	normal
8:16	16. 9. 48[1]	40,8 ± 1,4	nicht protokolliert	40,5	normal
8:20	16. 9. 48[1]	49,2 ± 3	nicht protokolliert	27,9	von 9 Pflanzen 3 vegetativ

[1] Diese Versuchsgruppe darf mit den übrigen nicht direkt verglichen werden (s. Vorversuche).

Tabelle 1 enthält die Ergebnisse dieses Versuches. Sämtliche Pflanzen blühten. Die Blühdaten der einzelnen Licht-Dunkelrhythmen zeigten nur verhältnismäßig geringe Unterschiede. Betrachtet man die Wirkung der Länge der Dunkelperioden, so sieht man, daß Pflanzen, deren Lichtzeit mit einer kurzen Dunkelperiode gekoppelt war, ihre Infloreszenzen

früher anlegten. So war der *Blühtermin (d. h. der Zeitpunkt, in dem die Infloreszenzanlagen eben makroskopisch erkennbar waren)* im Beleuchtungsverhältnis 4:20 23,2 und bei 4:44 28,5 Tage. Bei 8:24 zeigten sich die Infloreszenzanlagen nach 25,8, bei 8:40 nach 28,8 Tagen. Die Öffnungstermine und die Zahl der Blüten und Knospen wiesen große Streuungen auf, so daß die Unterschiede hier zum Teil verwischt sind. Der Vergleich der Rhythmen mit 4 bzw. 8 Std. Licht miteinander ergibt, daß die längere Belichtungszeit keine Beschleunigung im Erscheinen der Blüten herbeiführte; in manchen Fällen war es sogar umgekehrt. So erschienen im Rhythmus 4:28 die Blütenknospen nach 24,2 Tagen, und die erste Blüte öffnete sich nach 98,2 Tagen; im Beleuchtungswechsel 8:28 war der Blühtermin dagegen 26,2 und der Öffnungstermin 102,2 Tage Wahrscheinlich ist die größere Lichtintensität in den Versuchen mit der 4stündigen Belichtungszeit für dieses Ergebnis maßgeblich (vgl. HARDER und v. WITSCH 1942 sowie HARDER und GÜMMER 1949). Da jeweils nur 5 Pflanzen in den Versuch kamen, sind die Streuungen sehr erheblich, so daß in diesem Falle nur die Öffnungstermine statistisch gesichert sind. (In der Tabelle 1 — wie auch in den übrigen — sind die einfachen mittleren Fehler wiedergegeben.)

Versuch 2. Ab 9. 1. 50 wurden folgende Beleuchtungsverhältnisse angewandt: 11:9, 11:13, 11:17, 11:21, 11:25, 11:29, 11:33, 11:37. Von der Gruppe 11:9 (am 7. 2. wieder in den Langtag gesetzt) blieben alle Pflanzen vegetativ. Die kritische Dunkelzeit für eine 11stündige Hellperiode liegt demnach zwischen 9 und 11 Std, denn im Rhythmus 11:11 haben HARDER und GÜMMER (1949) schon Blütenbildung beobachtet. In allen übrigen untersuchten Rhythmen blühten die Pflanzen. Die Infloreszenzen waren normal und unverlaubt, und obschon dieser Versuch mitten im Winter angesetzt wurde, bildeten sich die Blüten-

Tabelle 2. *Blütenbildung in Rhythmen mit 11stündigen Hell- und verschieden langen Dunkelperioden.*

Hell-Dunkel-rhythmus	Versuchs-beginn	Sichtbarwerden der Infloreszenzen	Öffnen der ersten Blüte	Zahl der Blüten am 26. 4. 50	Gestaltung des Blütenstandes
		Tage nach Versuchsbeginn			
11: 9	9. 1. 50	—	—	—	alle Pflanzen vegetativ
11:13	9. 1. 50	21,4 ± 0,5	80,8 ± 2,7	44,0	normal
11:17	9. 1. 50	22,4 ± 0,4	84,6 ± 1,1	40,6	normal
11:21	9. 1. 50	22,2 ± 0,5	84,6 ± 0,9	41,8	normal
11:25	9. 1. 50	22,0 ± 0,6	85,8 ± 1,6	40,2	normal
11:29	9. 1. 50	24,8 ± 0,9	86,8 ± 2	25,6	normal
11:33	9. 1. 50	24,2 ± 0,5	87,8 ± 1,9	20,2	normal
11:37	9. 1. 50	26,8 ± 0,7	89,2 ± 1,5	17,8	normal

Tabelle 3. *Blütenbildung in Rhythmen mit 13stündigen Hell- und verschieden langen Dunkelperioden.*

Hell-Dunkel-rhythmus	Versuchs-beginn	Sichtbar-werden der In-floreszenzen	Öffnen der ersten Blüte	Zahl der Blüten und Knospen am 14. 3.	Ausbildung des Blüten-standes
		Tage nach Versuchsbeginn			
13:12	20. 9. 49	—	—	—	alle Pflanzen vegetativ
13:15	20. 9. 49	30,4 ± 1	49,6 ± 1,8	80,2	normal
13:19	20. 9. 49	30,8 ± 1,1	47,4 ± 0,7	71,8	normal
13:23	20. 9. 49	30,2 ± 0,7	50,2 ± 3,3	78,8	normal
13:27	20. 9. 49	31,2 ± 1	49,2 ± 0,9	76,0	normal
13:31[1]	20. 9. 49	32,2 ± 1	51,4 ± 3,7	64,0	normal

[1] Bei 13:35 konnte in anderem Zusammenhang ebenfalls Blütenbildung beobachtet werden.

stände verhältnismäßig rasch. Den frühesten Blühtermin zeigte 11:13 mit 21,4 Tagen, bei 11:17, 11:21 und 11:25 lagen die Daten (Tabelle 2) ungefähr zur gleichen Zeit (rund 22 Tage). Bei Rhythmen mit noch längeren Dunkelperioden wurde die Blühtendenz wie in Versuch 1 schwächer; das ist besonders deutlich an den Blütenzahlen zu erkennen, die am 26. 4. gezählt wurden: 11:13 hatte je Pflanze schon 44 geöffnete Blüten, 11:37 nur 17,8. Die übrigen Daten bewegten sich zwischen diesen beiden Werten.

Versuch 3. Im 24-Std-Zyklus ist die kritische Tageslänge 12 Std. (Hauschild 1943), denn bei 13stündiger Licht- und 11stündiger Dunkelperiode blieben die Pflanzen vegetativ. Der folgende Versuch sollte nun zeigen, ob die Pflanzen durch eine längere Dunkelzeit bei unveränderter Länge der Lichtperiode (13 Std) zur Blütenbildung gebracht werden können. Dazu wurden am 20. 9. 49 im Dunkelzimmer folgende Licht-Dunkelwechsel angesetzt: 13:12, 13:15, 13:19, 13:23, 13:27, 13:31. Während die Pflanzen bei 13:12 vegetativ blieben, erschienen im 13:15-Rhythmus Infloreszenzen (und zwar nach 30,4 Tagen) und ebenso bei allen anderen längeren Dunkelzeiten (Tabelle 3). Demnach wird bei größeren Tageslängen auch die kritische Dunkelzeit länger, denn bei 11stündiger Lichtperiode lag sie zwischen 9 und 11 Std, bei der 13stündigen zwischen 12 und 15. Alle Blühtermine lagen im Versuch 3 später als im Versuch 2; da der Versuch 3 im Frühherbst durchgeführt wurde, Versuch 2 aber im Winter, so war die Blühtendenz bei den Pflanzen im Versuch 3 aber wohl kaum jahreszeitlich herabgesetzt. Das spätere Erscheinen der Infloreszenzen zeigt vielmehr, daß der 13-Stundentag hemmend auf die Blütenbildung wirkte, auch wenn die Nachtperioden länger sind. Die Infloreszenzen waren bei sämtlichen blühenden Rhythmen aber normal und unverlaubt. Auch die aus dem Sichtbarwerden

der Infloreszenzen, dem Sichöffnen der ersten Blüte und der Anzahl der Knospen und Blüten erkennbare Blühintensität war mit zunehmender Nachtlänge zwar verringert, aber doch nur sehr schwach.

Versuch 4. Um festzustellen, in welchen Rhythmen mit langen Lichtperioden noch Blütenbildung möglich ist, wurden die aus Tabelle 4 ersichtlichen Licht-Dunkelkombinationen angesetzt. Nach 8wöchiger photoperiodischer Behandlung kamen die Gruppen in den Langtag. Bis zu diesem Zeitpunkt hatten nur vereinzelte Pflanzen der Rhythmen 16:21 und 16:25 Infloreszenzen angelegt. Im Langtag zeigten dann in den nächsten Wochen auch noch 16:17 und 16:29 Blütenanlagen.

Tabelle 4. *Blütenbildung in Rhythmen mit 16- oder 19stündigen Hell- und verschieden langen Dunkelperioden.*

Hell-Dunkel-rhythmus	Versuchs-beginn	Sichtbar-werden der In-floreszenzen	Öffnen der ersten Blüte	Zahl der Blüten und Knospen am 8. 6. 50	Ausbildung des Blüten-standes
		Tage nach Versuchsbeginn			
16:13	7. 2. 50	--	—	—	alle Pflanzen vegetativ
16:17	7. 2. 50	$66{,}8 \pm 3{,}9$ [1]	$114{,}5 \pm 1{,}1$	26	1 Pflanze vegetativ, verlaubt
16:21	7. 2. 50	$58{,}0 \pm 6{,}0$ [1]	$110{,}0 \pm 4$	—	3 Pflanzen vegetativ, verlaubt
16:25	7. 2. 50	$45{,}0 \pm 1{,}0$ [1] (94)	$103{,}5 \pm 0{,}2$	51 (15)	2 Pflanzen vegetativ, verlaubt
16:29	7. 2. 50	$62{,}5 \pm 3{,}4$ [1]	$118{,}5 \pm 0{,}5$	19	3 Pflanzen vegetativ, verlaubt
16:32	7. 2. 50	—	—	—	alle Pflanzen vegetativ
19:11	7. 2. 50	—	—	—	alle Pflanzen vegetativ
19:15	7. 2. 50	—	—	—	alle Pflanzen vegetativ
19:19	7. 2. 50	—	—	—	alle Pflanzen vegetativ
19:23	7. 2. 50	—	—	—	alle Pflanzen vegetativ
19:26	7. 2. 50	—	—	—	alle Pflanzen vegetativ
19:29	7. 2. 50	—	—	—	alle Pflanzen vegetativ

[1] Die Nichtblüher wurden unberücksichtigt gelassen.

16:13, 16:32 und sämtliche Rhythmen mit 19stündiger Lichtperiode blieben vegetativ. Aus den Blühdaten ergibt sich, daß 16:21 und 16:25 größere Blühfreudigkeit zeigten als 16:17. Das Optimum scheint im

16:25stündigen Beleuchtungswechsel zu liegen (die eine der Pflanzen zeigte erst nach 94 Tagen ihre Infloreszenzanlagen; sie hatte also ein ganz abweichendes Verhalten und ihre Daten sind daher in der Tabelle in Klammern eingetragen). Bei 16:29 werden die Bedingungen wieder ungünstiger (s. Blühdaten) und bei 16:32 blieben die Pflanzen dann vegetativ [bei letzterer Hell-Dunkelkombination haben schon HARDER, BODE und v. WITSCH (1944) keine Blütenbildung beobachten können]. Die Infloreszenzen waren bei sämtlichen Pflanzen verlaubt und dementsprechend die Blütenzahl gering. Die obere Grenze der Blütenbildung dürfte demnach bei der 16stündigen Hellperiode erreicht sein.

c) Ergänzungsversuche (Dauerverdunkelung vor Versuchsbeginn).

In den vorstehenden Tabellen war bei den verschiedensten Hell-Dunkelkombinationen mit Verlängerung der Dunkelperioden zunächst oft kein Nachlassen der Blühtendenz feststellbar, obschon die Anzahl der Licht-Dunkelrhythmen bis zum Erscheinen der Blüten natürlich um so kleiner wird, je länger jeder Zyklus dauert. Es wäre daher möglich, daß längere Dunkelperioden besonders blühfördernd wirken, so daß dadurch die Pflanzen schon mit kleinerer Rhythmenzahl (Anzahl der Licht-Dunkelwechsel bis zum Sichtbarwerden der Blütenstandsanlagen) Infloreszenzen anlegen. In der Literatur liegen schon vereinzelt Ergebnisse vor, die in diese Richtung weisen. So wird nach WESTPHAL (1944) und VAN SENDEN (1951) die Wirkung einer Kurztagbehandlung durch *vorherige* Verdunkelung der Pflanzen erhöht, und nach LENZEN (1945) fördert Dauerdunkel *nach* einer genügend großen Induktion die Blütenbildung. Wurden dagegen die Blätter *während* einer längeren photoperiodischen Behandlung in dauernder Dunkelheit gehalten, so wirkten sie hemmend, wie HAUSCHILD (1943) sowie HARDER und GÜMMER (1945) fanden. Das ist aber nicht verwunderlich, denn die verdunkelten Blätter verbrauchen in der langen Zeit viele Assimilate, so daß Stoffmangel die Anlage der Infloreszenzen ungünstig beeinflußt haben könnte.

Tabelle 5. *Blühdaten nach Vorbehandlung der Pflanzen mit Dauerdunkel- und Dauerlichtzeiten; Licht-Dunkelwechsel 9:15.*

Anzahl der Dunkeltage	Versuchsbeginn	Sichtbarwerden der Infloreszenzen	Öffnen der ersten Blüte	Zahl der Blüten am 12. 7. 50
		Tage nach Kurztagsbeginn am 26. 4. 50		
7	18. 4. 50	23,2 ± 1,0	33,7 ± 0,6	9,1
4	21. 4. 50	22,4 ± 0,5	32,2 ± 0,8	12,6
Dauerlicht	19. 4. 50	20,9 ± 0,5	32,5 ± 0,8	11,2
0	26. 4. 50	25,4 ± 0,9	35,9 ± 0,7	8,0

Besondere Versuche waren daher wünschenswert, um zu prüfen, ob längere Dunkelperioden günstig auf die Blütenbildung wirken. Dazu wurden zwei Gruppen mit je 5 Pflanzen gebildet, von denen die eine 7, die zweite 4 Tage Dauerdunkel *vor* Beginn der Kurztaginduktion erhielt (Tabelle 5). Diese Pflanzen kamen nach einem 16stündigen Langtag ins Dauerdunkel. Da *Kalanchoë* bei derartigen Lichtzeiten aber noch blüht (Tabelle 4), ist es unerläßlich, vor Versuchsbeginn den Blühimpuls unwirksam zu machen. Dazu boten Störungslicht und Dauerlicht Möglichkeiten.

Aus einem Vorversuch ergab sich, daß Störungslicht in der 8. Stunde nach Beginn von verschieden langen Dunkelperioden die Anlage der Infloreszenzen unterdrückt. Deshalb wurde der Blühimpuls der Gruppen, die Dauerdunkel erhielten, durch solches Störungslicht (1 Std Licht in der 8. Std. nach Beginn der Dauerverdunkelung) unwirksam gemacht. Außerdem stand eine Gruppe 5 Tage im Dauerlicht. Sämtliche Pflanzen erhielten ab 26. 4. Kurztag bis zum Erscheinen makroskopisch erkennbarer Infloreszenzen; dann kamen die Pflanzen wieder in den Langtag zurück.

Man erkennt aus Tabelle 5, daß die Dunkelzeit blühfördernd wirkte, und zwar die 4tägige wohl etwas mehr als die 7tägige (Sichtbarwerden der Infloreszenzen nach 22,4 bzw. 23,2 Tagen; bei der Kontrolle waren Infloreszenzen erst nach 25,4 Tagen festzustellen). Aber auch bei Pflanzen, die vor der rhythmischen Beleuchtung Dauerlicht erhalten hatten, lag der Blühtermin früher. Ob die Ursache dafür in der Menge der Kohlenhydrate, oder, da *Kalanchoë* einen Säurestoffwechsel hat, in dem im Dauerlicht sich einstellenden Gleichgewicht zwischen den diurnalen An- und Absäuerungen zu suchen ist, bedarf weiterer Untersuchungen.

Überblickt man noch einmal die vorstehenden Versuche, so sieht man, *daß das photoperiodische Verhalten von Kalanchoë durch eine große Regelmäßigkeit gekennzeichnet ist. Die Pflanzen in den verschiedensten Hell-Dunkelkombinationen legten fast alle Infloreszenzen an. Erst kurze Dunkelzeiten* (11:9, 13:12 und 16:13 blieben vegetativ) *und lange Lichtperioden* (19 Std) *vermochten die Blütenbildung dieser Kurztagspflanze zu unterdrücken.* Eine nähere Besprechung der Ergebnisse soll aber erst am Schluß der Arbeit erfolgen.

2. Atmungsmessungen.

a) Vorversuche.

Da die Atmung stark von exo- und endogenen Faktoren abhängig ist, mußte zunächst geprüft werden, unter welchen Bedingungen die Atmungsrhythmik am besten hervortritt und sich am genauesten untersuchen läßt. Vor Versuchsbeginn erhielten die Versuchspflanzen (1—$1^1/_2$ Jahre alt und 20—25 cm hoch) einen Beleuchtungswechsel von 12 Std Licht und 12 Std Dunkelheit (Temperatur 19 bis 22° C). Die Atmung wurde nicht während des periodischen Hell-Dunkelwechsels, sondern im Anschluß an eine Hellperiode in der dann eingeführten Dauerverdunkelung gemessen. Zu jeder Messung wurden im allgemeinen 4 Pflanzen verwendet, deren Atmungsintensität während 44 oder mehr Stunden gleichzeitig, aber für jede Pflanze gesondert, in Abständen von meistens 3 Std bestimmt wurde.

α) Abhängigkeit der Atmung von der vorhergegangenen Lichtintensität. Abb. 1 gibt den Verlauf der Atmung von 4 Pflanzen wieder, für die die Lichtintensität während der Hellperiode des 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsels 4000—5000 (obere beiden Kurven) bzw. 25000—30000 Lux (untere Kurven) betrug. Versuchstemperatur 15° C. Die Atmung sank nach Beginn der Verdunkelung zunächst ab, stieg dann an, um abermals abzufallen. Das sind jedoch Einzelheiten, die im Augenblick noch nicht interessieren; wesentlich ist zunächst nur, daß die Rhythmik der Atmung bei beiden Lichtintensitäten die gleiche war. Sie tritt aber nach den höheren Luxzahlen viel deutlicher hervor. Für die folgenden Unter-

suchungen erhielten die Pflanzen daher in den Lichtperioden 20000 bis 25000 Lux.

β) Verlauf der Atmung bei verschiedenen Temperaturen. In einer Anzahl von Versuchen wurde die Temperatur während der Atmungsbestimmungen variiert. Auf eine Wiedergabe von mehreren Versuchen bei 15° C kann verzichtet werden; die Atmung verlief in ihnen wie in Abb. 1, die ebenfalls aus Versuchen bei 15° C stammt: Die Minima und Maxima lagen 12—15 bzw. 24—27 Std nach Dunkelbeginn. Die CO_2-Abgabe in den ersten 12 Std war in den Versuchen meist noch

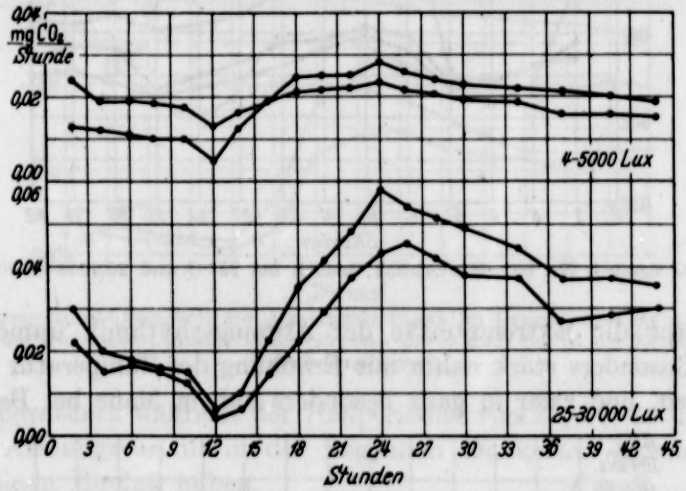


Abb. 1. Versuch Nr. 41. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dauerdunkel im Anschluß an 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel bei verschiedenen Lichtintensitäten (4000—5000 bzw. 25000—30000 Lux). Versuchstemperatur 15° C.

geringer als in denen der Abb. 1. Das änderte sich auch nicht, als die Temperatur auf 20° C erhöht wurde. Nach Erreichung des Minimums wurde jedoch bei dieser Temperatur der Kurvenanstieg viel steiler, und das Maximum lag bereits 21 Std nach Beginn der Messung, also 3 Std früher als bei 15°. Dann fiel die Kurve wieder ab, und das folgende Minimum war nicht deutlich ausgeprägt, während es bei 15° im allgemeinen 36 Std nach Einsetzen der Dunkelzeit lag.

Weitgehend änderte sich jedoch das Kurvenbild bei einer Versuchstemperatur von 25° C (Abb. 2). Die CO_2-Abgabe war bedeutend höher, und die Extrempunkte wurden früher erreicht als bei niedrigerer Temperatur. Aber auch die Streuungen waren größer. Die Minima lagen bei den 4 Pflanzen 9 bzw. 9—12 und die Maxima 18 bzw. 15 und 21 Std nach Dunkelbeginn. Dann fiel die Atmung wieder ab, und das nun folgende Minimum lag einheitlich 33 Std nach Versuchsanfang.

In Abb. 3 ist eine Rhythmik kaum noch zu erkennen. Die Versuchstemperatur betrug hier 30° C. Die CO_2-Abgabe war im Gegensatz zu

der bei tiefen Temperaturen besonders in den ersten Stunden nach Meßbeginn sehr groß und fiel dann fast kontinuierlich ab.

Einen Überblick über die Verhältnisse bei den verschiedenen Temperaturen gibt Abb. 4. In ihr sind die Mittelwertskurven aus den einzelnen Versuchen wiedergegeben. Man sieht deutlich, daß mit steigender

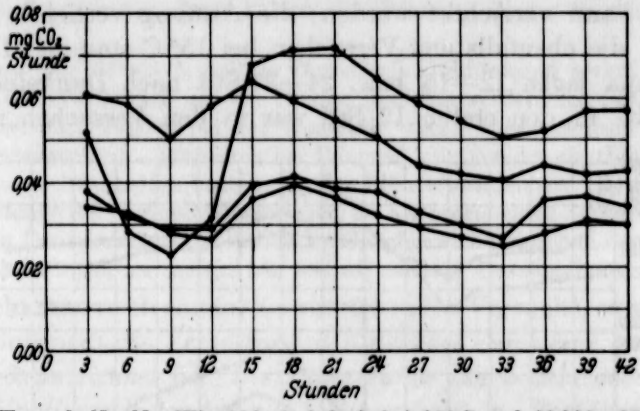


Abb. 2. Versuch Nr. 63. Wie Abb. 1, jedoch bei 25° C und 20000—25000 Lux.

Temperatur die Extrempunkte der Atmungsrhythmik immer früher liegen. Besonders stark nahm mit Erhöhung der Temperatur die CO_2-Abgabe zu, und zwar in ganz besonders hohem Maße bei Beginn der

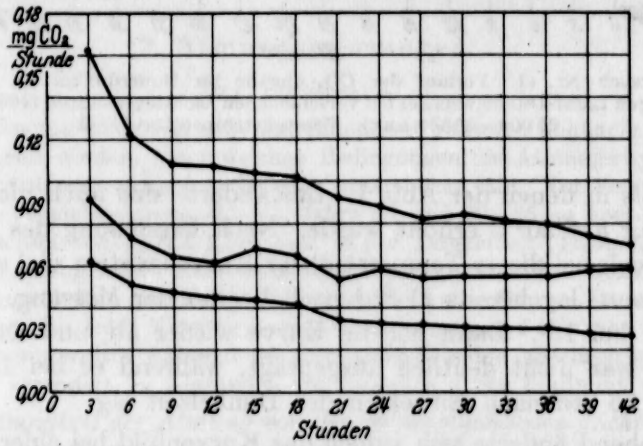


Abb. 3. Versuch Nr. 62. Wie Abb. 1, jedoch bei 30° C und 20000—25000 Lux.

Messungen, so daß Q_{10} zeitweise größer als 2 ist. Die Eigenart dieser Temperaturabhängigkeit der Atmung weist eindeutig auf die besonderen Stoffwechselvorgänge bei den Crassulaceen hin, auf die am Ende der Arbeit näher eingegangen werden soll.

Bei den vorstehenden Versuchen wurde der 12:12stündige Beleuchtungswechsel bei 19—22° C durchgeführt. Nun wurde die Temperatur auch während der Lichtperioden variiert. Die Pflanzen standen

dabei in einem durch 3 wassergekühlte 200-Watt-Birnen erleuchteten Thermostaten bei 15000 Lux in Spitzenhöhe, die Temperatur wurde durch ein $^1/_{10}{}^0$-Kontaktthermometer konstant gehalten. Es zeigte sich,

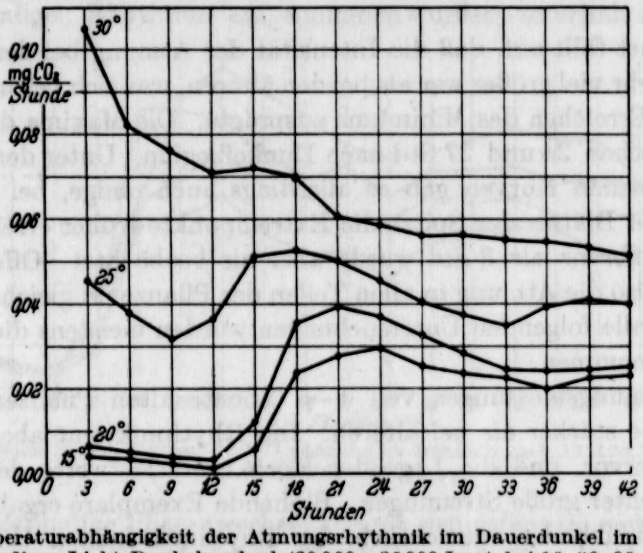


Abb. 4. Temperaturabhängigkeit der Atmungsrhythmik im Dauerdunkel im Anschluß an 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel (20000—25000 Lux) bei 15, 20, 25 und 30° C (Mittelwertskurven).

daß Temperaturen während der Hellperioden von 25, 30, 35 und 40° C auf den Atmungsverlauf in der folgenden Dunkelzeit (gemessen bei 15° C) keinen Einfluß haben.

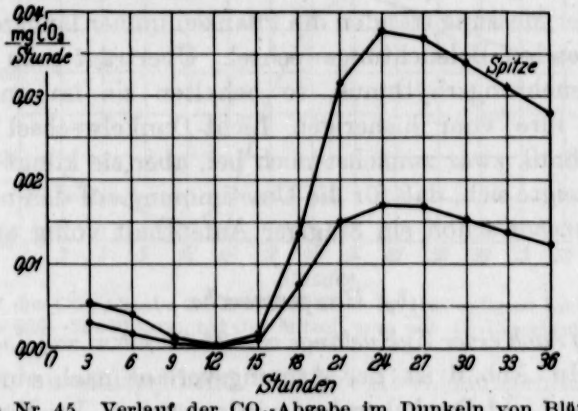


Abb. 5. Versuch Nr. 45. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln von Blättern der Spitze und der tieferen Zonen (15° C, 20000—25000 Lux, 12:12).

Die weiteren Atmungsmessungen fanden daher bei 15° C statt, während der Licht-Dunkelwechsel bei 19—22° C vorgenommen wurde.

γ) Atmung von Blättern verschiedener Zonen einer Pflanze. Um nachzuprüfen, ob der gesamte Sproß die gleiche Rhythmik hat, kamen verschiedene Stengelzonen mit je 3—4 Blattpaaren in den Versuch. Die Pflanzen hatten eine Höhe von 20—25 cm und besaßen 18—21 Knoten

und 14—17 Blattpaare. Von den Versuchen seien hier nur die mit den extremsten Regionen wiedergegeben, nämlich mit Blättern aus der untersten und der Spitzenregion der Pflanzen. Abb. 5 zeigt die Ergebnisse.

Zunächst fällt auf, daß die Intensität der Atmung bei den jüngeren Blättern sehr viel größer war als bei den älteren, was sich besonders stark erst nach Erreichen des Minimums ausprägte. Die Maxima der Kurven liegen zwischen 24 und 27 Std nach Dunkelbeginn. Unter den zahlreich aufgenommenen Kurven gab es allerdings auch einige, bei denen die Atmung der Blätter der Spitze die Extrempunkte früher erreichte; eine größere Differenz als 3 Std wurde aber nie beobachtet. Offensichtlich schwingt also die Atmung in allen Teilen der Pflanze im gleichen Rhythmus. Für alle folgenden Untersuchungen wurden meistens die jüngeren Blätter genommen.

Bei Atmungsmessungen von 4—5 Monate alten Pflanzen war die CO_2-Abgabe stärker als bei älteren. Die Rhythmik trat aber nicht so deutlich hervor, und die Lage der Hoch- und Tiefwerte der Kurven zeigte mitunter große Streuungen. Blühende Exemplare ergaben gegenüber nichtblühenden hinsichtlich der Rhythmik keinen Unterschied. Sie atmeten aber etwas schwächer. Das ist nicht verwunderlich, denn solche Pflanzen hören zunächst auf, vegetativ weiter zu wachsen. So werden die Blätter immer älter, und oben wurde schon festgestellt, daß dann die Kohlensäureausscheidung geringer wird.

δ) Umstimmung der Pflanzen auf einen anderen Beleuchtungsrhythmus. Vor Beginn der Messung standen die Pflanzen immer längere Zeit in dem zu untersuchenden Beleuchtungswechsel. Überträgt man sie in einen anderen Beleuchtungsrhythmus, so behalten sie im anschließenden Dauerdunkel ihre vom bisherigen Licht-Dunkelwechsel aufgeprägte Atmungsrhythmik zwar zunächst noch bei, aber sie klingt doch relativ bald ab. Es zeigte sich, daß für die Umstimmung auf den neuen Rhythmus bei *Kalanchoë* schon ein 3tägiger Aufenthalt völlig ausreicht.

b) Hauptversuche.

α) Atmung nach einer Zykluslänge von 24 Stunden. αα) Lichtzeit 12 Std und kürzer. In Abb. 6 ist der Atmungsverlauf nach einem 4tägigen 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel wiedergegeben. Die Figur bestätigt, was sich vorstehend (Abb. 1, Abb. 4 untere Kurve und Abb. 5) ergeben hat, nämlich, daß die Atmung von *Kalanchoë* auch im Dauerdunkel eine dem Beleuchtungsverhältnis entsprechende Rhythmik hat. In den ersten 12 Std war die CO_2-Ausscheidung der Pflanzen äußerst gering und erreichte am Ende dieser Zeit ein Minimum. In anderen Versuchen konnte oft stundenlang in diesem Zeitabschnitt überhaupt keine Kohlensäureabgabe festgestellt werden. In den folgenden 12 Std steigen die Kurven

steil an und erreichen das Maximum im allgemeinen 24 Std nach Dunkelbeginn. In mehreren Versuchen lagen diese Extrempunkte 3 Std später. Bildet man jedoch den Mittelwert aus den 48 Einzelkurven, die nach einem 12:12stündigen Rhythmus aufgenommen wurden, so erhält man Abb. 7.

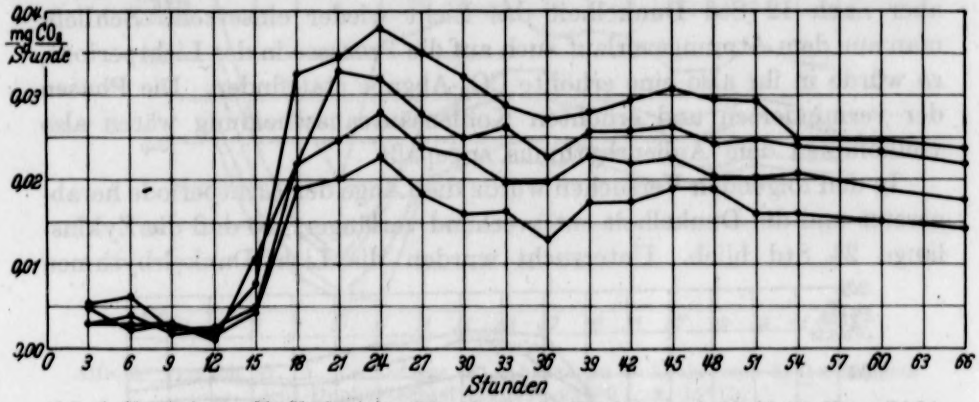


Abb. 6. Versuch Nr. 60. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 12:12stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

Der 12stündige Phasenwechsel kommt wenigstens im ersten Teil klar zum Ausdruck. Die Ursachen für die vorgefundenen Abweichungen konnten nicht festgestellt werden. Vielleicht ist die Menge der Kohlen-

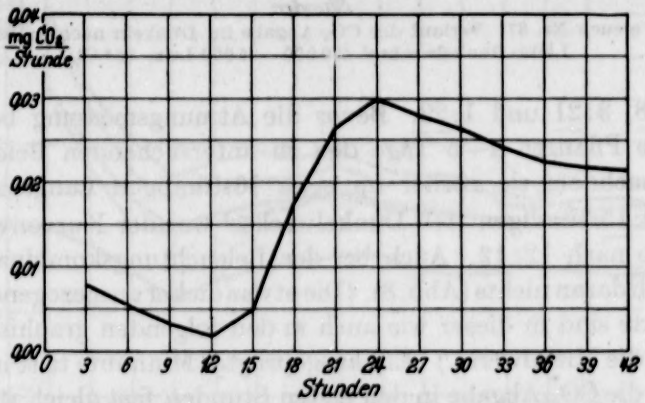


Abb. 7. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 12:12stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C). Mittelkurve aus 48 Einzelkurven.

hydrate dafür ausschlaggebend. Größere Abweichungen als 3 Std waren sehr selten. Nach Erreichen des Maximums fiel die Atmung wieder langsam ab, um nach 12 Std erneut ein Minimum zu haben, das aber viel höher als das erste lag. Der nun folgende Anstieg der Kurven ist verhältnismäßig schwach und fehlt in vielen Versuchen, vor allem auch im Mittelwert (Abb. 7). Das mag auf einen Mangel an Assimilaten zurückzuführen sein. Wenn es vorhanden war, wurde das 2. Maximum 45 Std nach Dunkelbeginn erreicht, 3 Std vor dem theoretisch zu erwartenden Zeitpunkt. Dann nahm die Atmung kontinuierlich ab und zeigte keinen

Anstieg mehr. Die endogene Rhythmik war bei *Kalanchoë* also nur von kurzer Dauer.

Bei der in Abb. 6 und 7 gemessenen Atmungsrhythmik handelt es sich um Nachschwingungen im Dauerdunkel. Normalerweise würde aber nach 12 Std Dunkelheit das Licht wieder einsetzen. Schließt man aus dem Atmungsverlauf auch auf die Prozesse in der Lichtperiode, so würde in ihr also eine erhöhte CO_2-Abgabe stattfinden. Die Phasen der verminderten und erhöhten Kohlensäureausscheidung wären also vollkommen dem Außenrhythmus angepaßt.

In den folgenden Versuchen wurde die Länge der Lichtperiode herabgesetzt und die Dunkelheit entsprechend verlängert, so daß die Zykluslänge 24 Std blieb. Untersucht wurden die Licht-Dunkelrhythmen

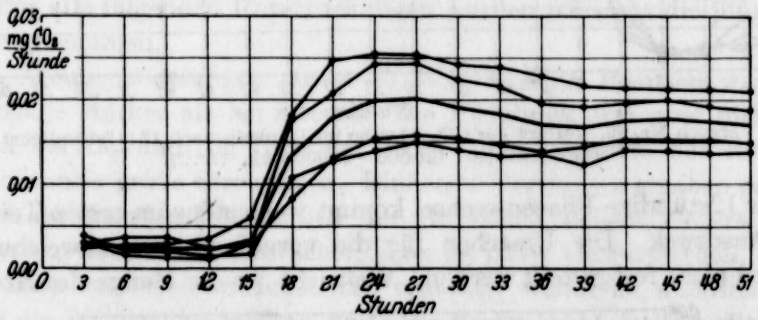


Abb. 8. Versuch Nr. 67. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 6:18stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

9:15, 6:18, 3:21 und 1:23. Bevor die Atmungsmessung begann, erhielten die Pflanzen 4—5 Tage den zu untersuchenden Beleuchtungswechsel, nachdem sie vorher im etwa 16stündigen Langtag standen.

Beim 9:15stündigen Hell-Dunkelwechsel war der Kurvenverlauf der gleiche wie nach 12:12. Auch bei der Beleuchtungskombination 6:18 änderte sich daran nichts (Abb. 8). (Die etwas dicker ausgezogenen Kurven ohne Punkte sind in dieser wie auch in den folgenden graphischen Darstellungen die Mittelwerte.) Ein ausgeprägtes Minimum tritt nicht mehr hervor, da die CO_2-Abgabe in den ersten Stunden fast gleich war. 12 bis 15 Std nach Beginn der Messung setzte dann wieder die Periode erhöhter Kohlensäureausscheidung ein. Sie war nicht so stark wie beim 12:12stündigen Hell-Dunkelwechsel (Abb. 6), was nicht verwunderlich ist, da die Pflanzen täglich nur 6 Std belichtet wurden. Da 6:18 denselben Atmungsverlauf zeigte wie die Beleuchtungskombinationen 12:12 und 9:15 (12 Std nach Beginn der Messung erfolgte ein Umschwung zu erhöhter CO_2-Abgabe, die nach 12 weiteren Stunden wieder vermindert wurde), ist demnach nicht der Licht-, sondern der Dunkelbeginn für die Atmungsrhythmik dieser Kurztagszyklen im Dauerdunkel maßgebend. Das zeigen auch die Kurven eines 3:21stündigen Licht-Dunkelwechsels (Abb. 9). Hier war ebenfalls die 12:12stündige Rhythmik vorhanden,

jedoch war im Anfang der Messung die CO_2-Abgabe genau so stark wie nach 24 Std zur Zeit des Maximums. Da sowohl bei 9:15 und 6:18 als auch bei 3:21 das Minimum der Atmung 12 Std nach Meßbeginn

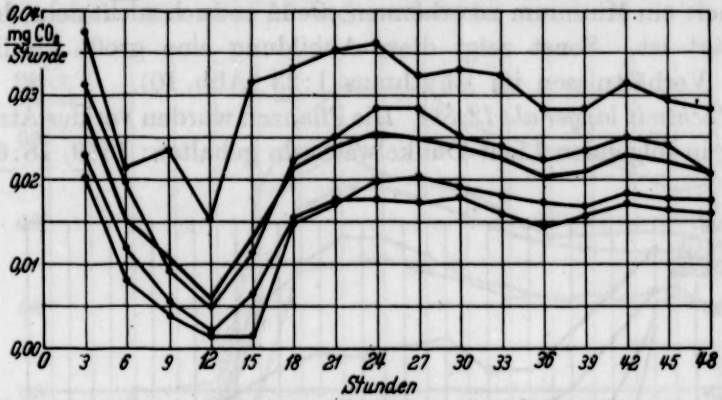


Abb. 9. Versuch Nr. 75. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 3:21stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

lag, so begann in allen diesen Zyklen die erhöhte CO_2-Abgabe immer zu dem Zeitpunkt, zu dem im Licht-Dunkelwechsel noch Dunkelheit geherrscht hätte.

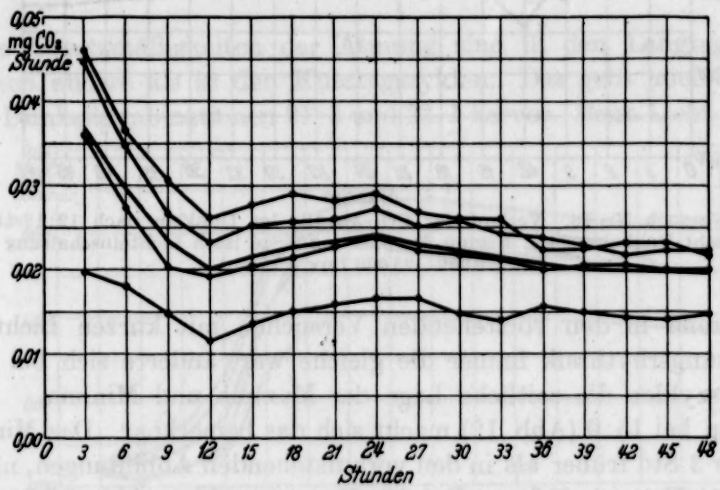


Abb. 10. Versuch Nr. 74. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 1:23stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

Starke Kohlensäureausscheidung gleich zu Beginn der Messung zeigten auch die Pflanzen, die im Beleuchtungswechsel 1:23 gestanden hatten (Abb. 10). Die Atmungsschwankungen waren hier aber nur noch sehr schwach.

Um noch einmal nachzuprüfen, ob in Tageszyklen mit Lichtperioden bis zu 12 Std immer zum selben Zeitpunkt in der anschließenden Dunkelheit ein Atmungsminimum erreicht wird, wurden Pflanzen zunächst im 12:12stündigen Beleuchtungswechsel gehalten. Die Messung

begann dann aber nicht am Ende der Lichtzeit wie in den obigen Versuchen, sondern schon 3 Std nach Beleuchtungsbeginn. Das Ergebnis ist in Abb. 11 dargestellt. Auch bei diesen Kurven ist nach 12 Std Dunkelheit ein Minimum zu erkennen, wenn es auch nicht sehr deutlich ausgeprägt ist. Sonst zeigt diese Abbildung eine große Ähnlichkeit mit den Verhältnissen im Rhythmus 1:23 (Abb. 10).

ββ) Lichtzeit länger als 12 Std. Die Pflanzen wurden vor der Atmungsmessung in folgenden Licht-Dunkelwechseln gehalten: 15:9, 18:6, 21:3 und 23:1.

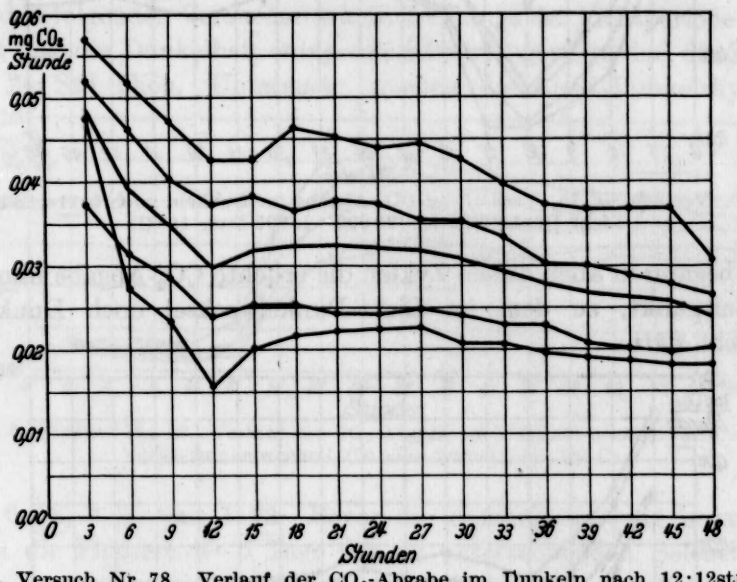


Abb. 11. Versuch Nr. 78. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 12:12stündigem Licht-Dunkelwechsel. Beginn der Messung 3 Std nach Lichteinschaltung (20 000—25 000 Lux, 15° C).

Während in den vorstehenden Versuchen mit kurzen Lichtzeiten die Atmungsrhythmik immer die gleiche war, änderte sich bei diesen Langtagszyklen die zeitliche Lage der Maxima und Minima.

Schon bei 15:9 (Abb. 12) macht sich das bemerkbar. Das Minimum liegt hier 3 Std früher als in den voraufstehenden Abbildungen, nämlich 9 Std nach Versuchsanfang. Bei den Kurztagszyklen (Abb. 8—10) folgte auf das Minimum 12 Std. später das Maximum. Das war hier nur bei einer Kurve der Fall, bei den übrigen lag der Zeitpunkt der größten CO_2-Abgabe aber — allerdings nicht sehr ausgeprägt — später, nämlich 21—24 Std nach Dunkelbeginn (15—18 Std hinter dem Minimum). Im Licht-Dunkelwechsel würde in der 9.—24. Std wieder die Hellperiode liegen. Die Phase der zweiten verminderten CO_2-Abgabe beginnt demnach schon 1—3 Std vor Einsetzen der Dunkelheit.

Abb. 13 zeigt die Verhältnisse beim 18:6stündigen Rhythmus. Das Minimum dürfte etwa 6 Std nach Versuchsbeginn liegen. Eigenartig

ist, daß in den folgenden 6 Std die CO_2-Abgabe zunächst nur sehr langsam zunahm und erst danach der steile Kurvenanstieg erfolgt. Das Maximum wurde im Mittel nach 21 Std erreicht. Vom Zeitpunkt 6 an gerechnet sind dann aber 15 Std verflossen.

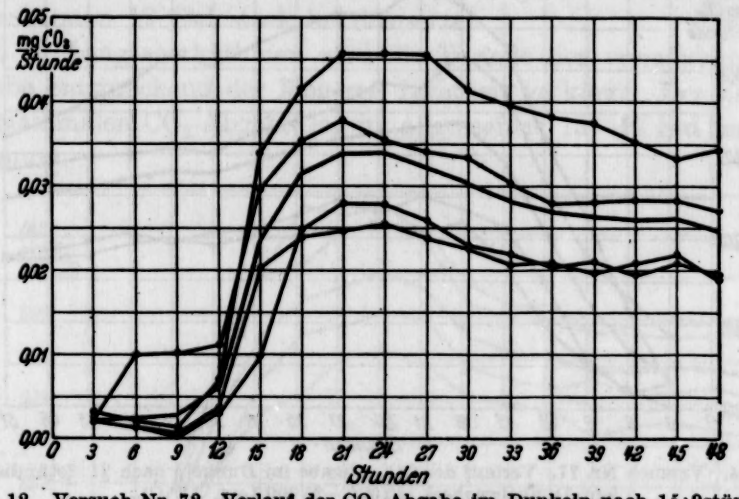


Abb. 12. Versuch Nr. 72. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 15:9stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

Die Gesetzmäßigkeiten der Atmung sind in den Langtagszyklen demnach andere als in den Kurztagszyklen. Das geht auch aus den Licht-Dunkelkombinationen 21:3 und 23:1 hervor. Beim Licht-Dunkel-

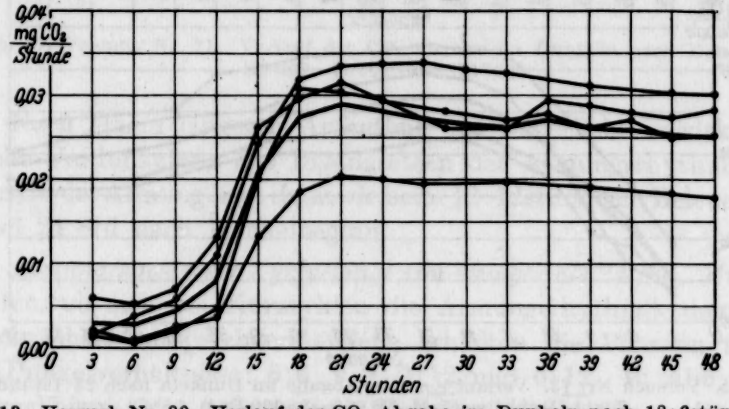


Abb. 13. Versuch Nr. 80. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 18:6stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

wechsel 21:3 (Abb. 14) steigen die Kurven gleich zu Beginn der Messung an, und das Maximum wird nach 18—21 Std erreicht; es verstrichen also 15—18 Std. bis zu diesem Zeitpunkt, wenn man das Minimum 3 Std nach Dunkelbeginn annimmt.

Abb. 15 zeigt die Atmung beim Beleuchtungsrhythmus 23:1. Der Verlauf entspricht dem beim 21:3-Licht-Dunkelwechsel.

In Abb. 16 ist ein Versuch wiedergegeben, bei dem die Pflanzen 7 Tage im Dauerlicht standen, bevor sie zur Messung der Atmung verdunkelt wurden. Man sollte erwarten, daß nun eine Atmungsrhythmik

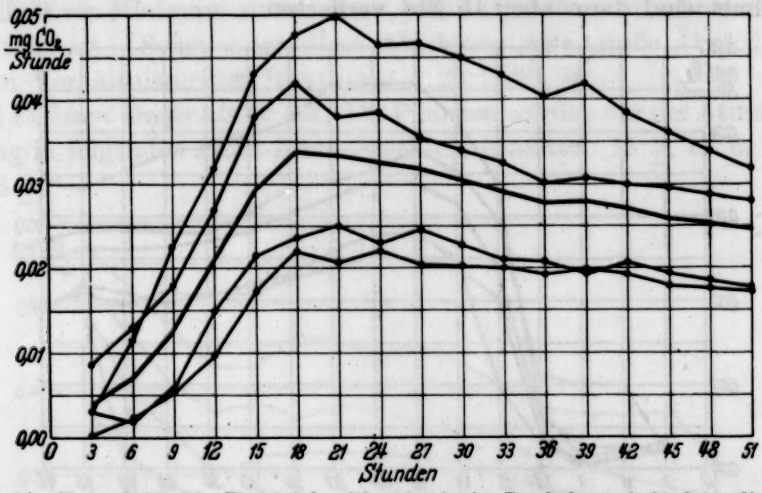


Abb. 14. Versuch Nr. 77. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 21:3stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

nicht mehr hervortreten würde. Die Kurven zeigen aber, daß bei *Kalanchoë* schon die einfache Einschaltung einer mehrstündigen Dunkelperiode so regulierend wirkt, daß der Zeitpunkt des Maximums wie

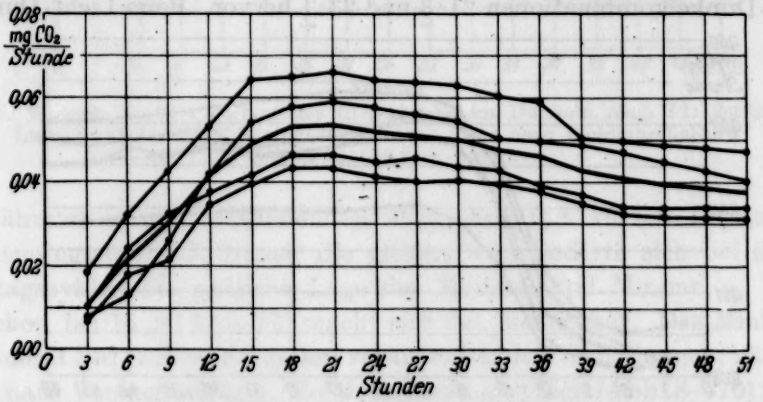


Abb. 15. Versuch Nr. 73. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 23:1stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

nach 12:12stündigem Licht-Dunkelwechsel erreicht wird. Ein Minimum ist dagegen nicht zu erkennen.

Zusammenfassend ergibt sich aus den Versuchen mit 24stündiger Zyklusdauer folgendes:

Bei Licht-Dunkelkombinationen mit einer Zyklusdauer von 24 Std und einer Lichtperiode von 12 Std und weniger ist der Dunkelperiode für die Lage der Extrempunkte der Atmung im Dauerdunkel

ausschlaggebend. Das Minimum der CO_2-Abgabe liegt stets 12—15 Std nach Beginn der Messung und das Maximum 12 Std später.

2. In diesen Beleuchtungsrhythmen ist wenigstens eine 6stündige Belichtung erforderlich, um die CO_2-Abgabe gleich nach Dunkelbeginn in den ersten 12 Std stark herabzusetzen.

3. In Langtagsrhythmen wird die Periode der verminderten CO_2-Abgabe entsprechend der längeren Lichtzeit verkürzt. Der Zeitpunkt der maximalen CO_2-Abgabe lag im allgemeinen 15—18 Std nach dem Minimum.

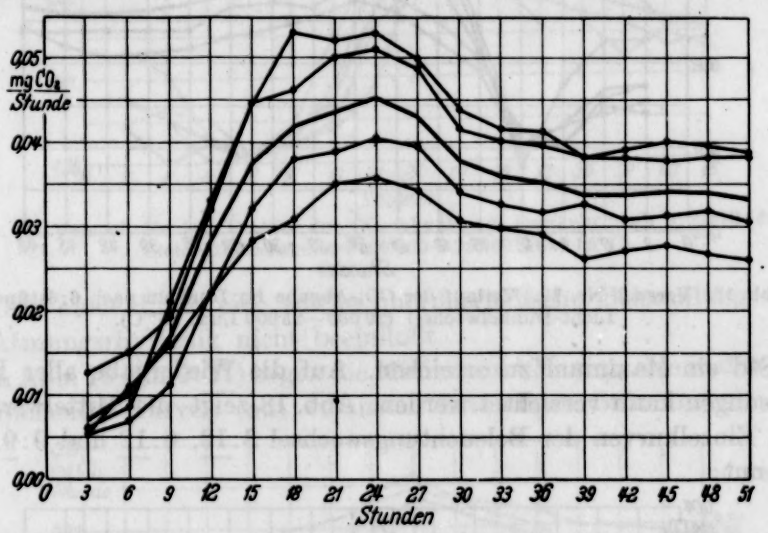


Abb. 16. Versuch Nr. 71. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach Dauerlicht (20 000—25 000 Lux, 15° C).

4. Nach einem längeren Aufenthalt im Dauerlicht bewirkt schon einfache Verdunkelung das Ingangsetzen der Atmungsrhythmik. Das Maximum der Atmung liegt dann wie beim 12:12stündigen Beleuchtungswechsel 24 Std nach Dunkelbeginn.

β) Atmung nach einer Zykluslänge von weniger als 24 Std. Um nachzuprüfen, ob sich bei Kurzzyklen die Atmungsrhythmik dem Licht-Dunkelwechsel entsprechend ändert, erhielten die Pflanzen folgende Licht-Dunkelverhältnisse: 6:6, 9:9, 3:12 und 6:12. In Abb. 17 sind die Ergebnisse einer 6:6stündigen Hell-Dunkelbehandlung dargestellt, die sich demnach in den Nachschwingungen nicht widerspiegelt. Vielmehr erfolgte ein deutlicher 12:12stündiger Wechsel der Atmungsintensität (Umschwung zu verminderter bzw. erhöhter CO_2-Abgabe[1]).

[1] Ähnlich wie *Kalanchoë* zeigte auch die Fermenttätigkeit von *Phaseolus multiflorus* (Ehrenberg 1949) bei 6stündigem Licht-Dunkelwechsel eine 12stündige Rhythmik. Ehrenberg führte ihre Untersuchungen aber nicht an Pflanzen durch, die wie in unseren Atmungsmessungen im Dauerdunkel standen, sondern die den Beleuchtungswechsel erhielten.

Auch die übrigen Kurzzyklen ergaben einen ähnlichen Atmungsverlauf wie nach einer 6:6stündigen Beleuchtungsperiodizität: Die Atmung sank zunächst während 12 Std ab, um dann nach weiteren

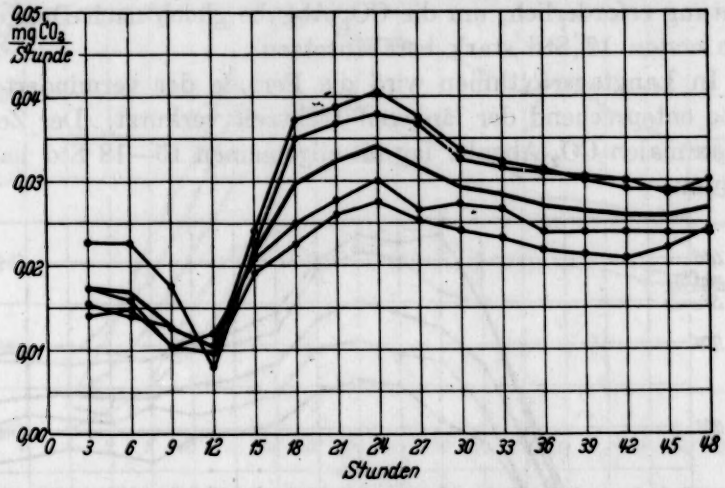


Abb. 17. Versuch Nr. 79. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 6:6stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

12 Std ein Maximum zu erreichen. Auf die Wiedergabe aller Einzelmessungen kann verzichtet werden. Abb. 18 zeigt die Mittelwerte aus je 4 Einzelkurven der Beleuchtungswechsel 3:12, 6:12 und 9:9. Man erkennt:

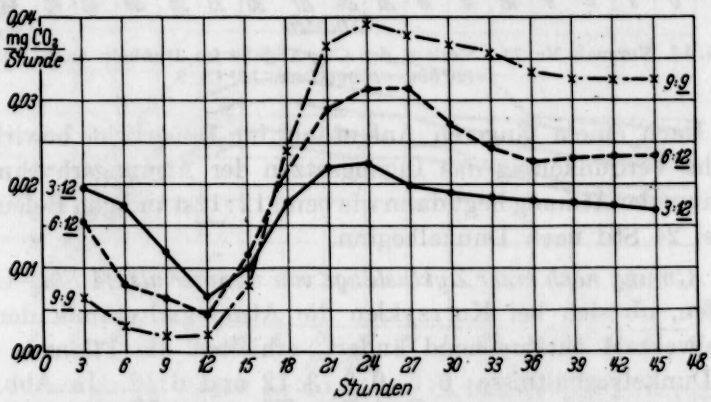


Abb. 18. Versuch Nr. 81, 82, 83. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 3:12, 6:12 und 9:9stündigem Licht-Dunkelwechsel (Mittelwerte aus je 4 Einzelkurven) (20 000—25 000 Lux, 15° C).

1. Je kürzer eine Lichtperiode ist, um so größer wird die CO_2-Abgabe nach Dunkelbeginn in den ersten Stunden.

2. Ist die CO_2-Ausscheidung in den ersten 12 Std gering, so wird sie in den folgenden um so stärker.

3. Daher werden mit längeren Lichtperioden auch die Amplituden der Atmungskurven größer.

4. Eine Vorbehandlung mit Kurzzyklen hat keinen Einfluß auf die 12stündige Rhythmik der Nachschwingungen.

γ) Atmung nach einer Zykluslänge von mehr als 24 Std. In den folgenden Versuchen wurden die Licht-Dunkelkombinationen 6:24, 9:21, 9:39 und 16:16 gewählt, um vielleicht dadurch eine Änderung in der zeitlichen Lage der Nachschwingungen zu erzielen.

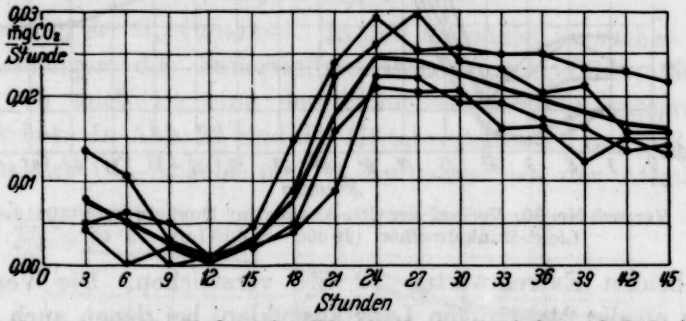


Abb. 19. Versuch Nr. 86. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 9:21stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

Aber auch durch eine solche photoperiodische Behandlung wurde die Atmungsrhythmik nicht beeinflußt.

In Abb. 19 (für 9:21) liegen die Minima und Maxima wie in den schon besprochenen Kurven (mit vereinzelt 3stündigen Streuungen). Auch

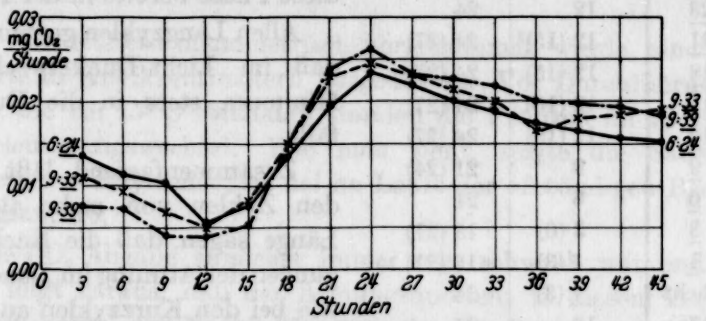


Abb. 20. Versuch Nr. 85, 88 und 89. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln bei den Langzyklen 6:24, 9:33 und 9:39 (Mittelwerte aus je 4 Einzelkurven) (20 000—25 000 Lux, 15° C).

bei 6:24, 9:33 und 9:39 war das Kurvenbild unverändert; die Mittelwertskurven in Abb. 20 haben synchronen Verlauf. Sie zeigen übrigens die schon im vorigen Abschnitt gefundenen Beziehungen zwischen der CO_2-Abgabe der ersten 12 Std nach Dunkelbeginn und der nachfolgenden Zeit.

Anders wurde das Bild hingegen im 16:16stündigen Beleuchtungswechsel. Hier lagen die Wendepunkte[1] der Kurven früher (Abb. 21). Das tritt besonders in der zeitlichen Lage der Maxima hervor, die mit

[1] Abweichend von der mathematischen Bedeutung sind hier als Wendepunkte in den Atmungskurven stets die Extremwerte zu verstehen.

einer Ausnahme 3 Std früher erreicht wurden. Bei 2 Kurven liegen dann auch die Minima entsprechend früher, so daß wie üblich zwischen

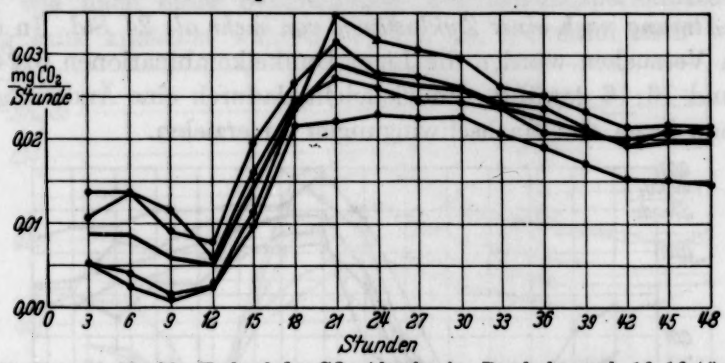


Abb. 21. Versuch Nr. 90. Verlauf der CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 16:16stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

diesen beiden Extremwerten 12 Std verstrichen. Die Verhältnisse erinnern an die 24stündigen Langtagszyklen, bei denen auch der Zeitpunkt geringster und größter CO_2-Abgabe vorverlegt waren. Nimmt man an, daß die Periode der verminderten Kohlensäureausscheidung ebenfalls 12 Std dauert, so beginnt diese Phase bereits in der Lichtzeit.

Tabelle 6.

Licht-Dunkelwechsel	Minima	Maxima
	Stunden nach Beginn der Dunkelheit	
1:23	12	24
3:21	12 (15)[1]	24 (27)
6:18	12 (15)	24 (27)
9:15	12 (15)	24 (27)
12:12	12 (15)	24 (27)
15: 9	9	21 (24)
18: 6	6	21
21: 3	3 (6)	18 (21)
23: 1	? (3)	18 (21)
Dauerlicht	? (3)	24
13:12	12	24
6: 6	(9) 12	24
6:12	12	24
6:24	12	24
9: 9	12	24
9:21	12	24 (27)
9:33	12	24
9:39	12	24
16:16	9 (12)	21

[1] Die in Klammern gesetzten Zahlen bedeuten die gefundenen Abweichungen.

Allen Langzyklen gemeinsam ist, daß im Licht-Dunkelwechsel das Minimum stets in die Dunkelzeit fällt.

Zusammenfassend läßt sich zu den Zyklen von mehr als 24 Std Länge sagen, daß die Nachschwingungen der Atmung im Dauerdunkel wie bei den Kurzzyklen auch durch Langzyklen nicht beeinflußt werden, sofern die Lichtperiode 12 Std nicht überschreitet. Stets laufen aber rhythmische Prozesse ab, die durch verminderte und erhöhte CO_2-Abgabe gekennzeichnet sind, und deren endogener Charakter daraus hervorgeht, daß sie zur Abwicklung eine ganz bestimmte Zeit benötigen.

δ) Zusammenfassung zu den Hauptversuchen. Überblickt man sämtliche Versuche, so sieht man, daß die im Dauerdunkel in Erscheinung tretende Rhythmik der Atmung von *Kalanchoë* durch große Regel-

mäßigkeit gekennzeichnet ist. In Tabelle 6 sind die Maxima und Minima der Kurven bei den verschiedenen Beleuchtungsverhältnissen eingetragen. Größere Abweichungen treten nur bei Zyklen mit langen Lichtperioden auf (Abb. 21).

c) Ergänzungsversuche.

α) Messung der O_2-Aufnahme. In den folgenden Versuchen wurden einige Messungen der Sauerstoffaufnahme durchgeführt, um festzustellen, ob auch sie eine der Kohlensäureabgabe entsprechende Rhythmik hat. In Abb. 22 sind die Mittelwertskurven aus je 3 Einzelmessungen der CO_2-Abgabe und O_2-Aufnahme bei der Atmung ein-

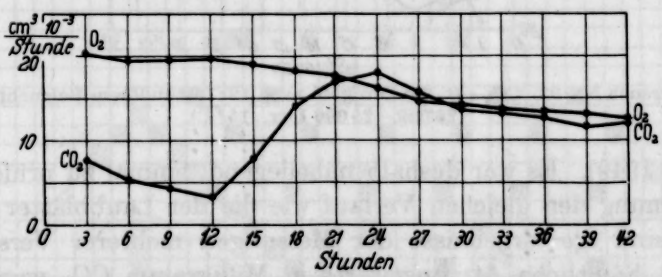


Abb. 22. Versuch Nr. 95. O_2-Aufnahme und CO_2-Abgabe im Dunkeln nach 12:12stündigem Licht-Dunkelwechsel (20000—25000 Lux, 15° C).

getragen. Da letztere manometrisch vorgenommen wurde, sind sämtliche Werte in Kubikzentimetern ausgedrückt. Vor Durchführung der Versuche, die bei 15° C stattfand, standen die Pflanzen im 12:12stündigen Beleuchtungswechsel. Wie man sieht, zeigte die Sauerstoffaufnahme keine Rhythmik; sie fiel im Laufe der 42stündigen Beobachtung langsam ab.

Da die CO_2-Abgabe zunächst immer sehr schwach war und dann zunahm, folgt daraus, daß der Atmungsquotient in diesem Zeitraum nicht 1 sein kann. Zur Nachprüfung wurden die Rezipienten ohne Absorptionsflüssigkeit beschickt. Ist der Atmungsquotient 1, d. h. wird genau so viel O_2 aufgenommen, wie CO_2 abgegeben, so können in den Atmungskammern keine Druckdifferenzen auftreten und das Manometer kann keinen Ausschlag zeigen. Das war bei *Kalanchoë* besonders in den ersten Stunden nach Dunkelbeginn aber nie der Fall. Die Manometerausschläge geben dann die Druckdifferenz des Gaswechsels CO_2—O_2 an. Diese Werte (auf Kubikzentimeter berechnet) sind für einige Versuche in Abb. 23 eingetragen. Durch den 0-Punkt der Ordinate geht eine Linie, die andeuten soll, daß die auf ihr liegenden Werte einem Atmungsquotienten von 1 entsprechen, denn die Differenz CO_2—O_2 ist dann Null. Man erkennt, daß die RQ-Werte besonders in den ersten 12 Std nach Dunkelbeginn kleiner als 1 sein müssen, um dann, wenn die erhöhte CO_2-Abgabe einsetzt, allmählich den Wert 1 zu erreichen.

In einigen Fällen wurde der Atmungsquotient sogar größer als 1. Wir kommen auf den Atmungsquotienten unten noch zurück.

β) Atmungsverlauf von Blütenblättern. Außer der Guttation ist eine endogene Rhythmik bei *Kalanchoë* auch an den Blütenblattbewegungen von mehreren Mitarbeitern des hiesigen Instituts beobachtet worden

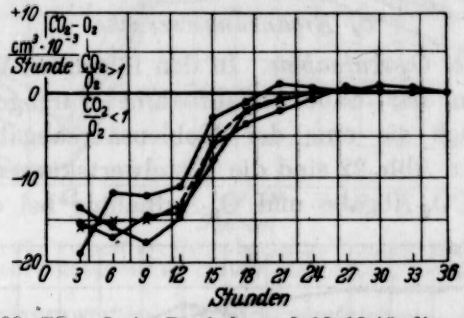


Abb. 23. Versuch Nr. 93. CO_2—O_2 im Dunkeln nach 12:12stündigem Beleuchtungswechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

(HARDER 1949). Es war deshalb naheliegend, einmal zu prüfen, ob die Blütenatmung den gleichen Verlauf wie die der Laubblätter zeigt. In Abb. 24 sind die Ergebnisse der Messungen mehrerer Versuche eingetragen. Sämtliche Atmungswerte in Milligramm CO_2 wurden nicht wie bisher auf 20 cm² Blattfläche berechnet, sondern auf 1 g Frisch-

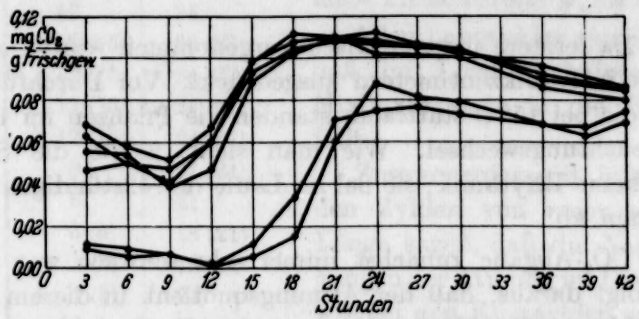


Abb. 24. Versuch Nr. 96. Verlauf der CO_2-Abgabe von Blüten- (obere Kurven) und Laubblättern (untere beiden Kurven) im Dunkeln nach 12:12stündigem Licht-Dunkelwechsel (20 000—25 000 Lux, 15° C).

gewicht. Die Temperatur betrug 15° C, der Beleuchtungsrhythmus war 12:12. Wie aus dem Kurvenverlauf hervorgeht, ist die CO_2-Abgabe der Blütenblätter (obere Kurven der Abb. 24) erheblich stärker als die der zugehörigen Laubblätter (untere Kurven). Der Ablauf der physiologischen Prozesse scheint jedoch im wesentlichen der gleiche zu sein, wenn auch die Wendepunkte 3 Std früher erreicht werden. Da bei 15° die ebenfalls einen 12:12-Rhythmus zeigenden Blütenblattbewegungen schon stark verzögert sind, bedarf es weiterer Untersuchungen, um festzustellen, inwieweit hier eine Übereinstimmung bei verschiedenen Temperaturen besteht.

III. Besprechung der Ergebnisse.

1. Die Gesetzmäßigkeiten der Blütenbildung.

Um einen Überblick über die Blütenbildung von *Kalanchoë Bloßfeldiana* bei den in dieser Arbeit untersuchten Beleuchtungsverhältnissen wie auch bei allen anderen, über die in der Literatur bisher berichtet worden ist (HARDER, GÜMMER und GALL 1945, HARDER und GÜMMER 1949), zu erhalten, sind in Abb. 25 sämtliche bisher bekannt gewordenen Ergebnisse eingetragen. Auf der Abszisse sind die Dunkel-, auf der Ordinate die Hellstunden abgetragen. Bei Blütenbildung sind

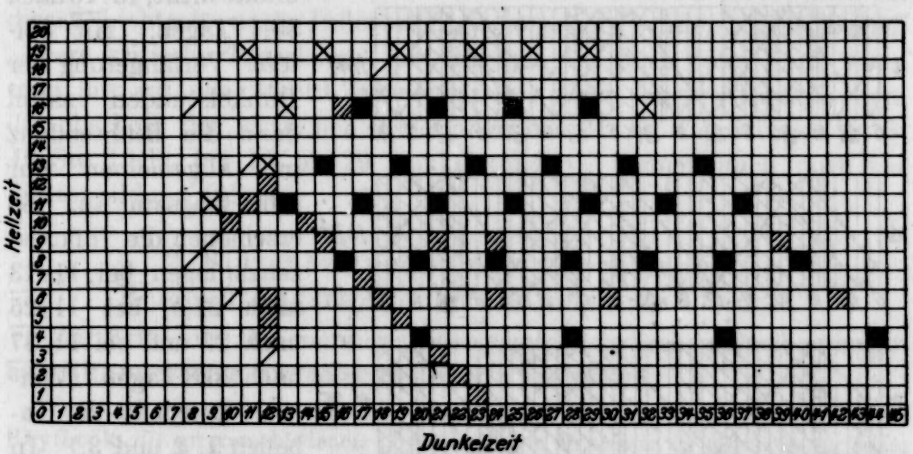


Abb. 25. Blütenbildung von *Kalanchoë Bloßfeldiana* bei verschiedenen Kombinationen von Hell- und Dunkelzeiten. Schwarze Felder = Blütenbildung bei eigenen Versuchen; schraffierte = Blütenbildung nach Angaben aus der Literatur; Felder mit Kreuz = keine Blütenbildung bei eigenen Versuchen; Felder mit Schrägstrich = keine Blütenbildung nach Angaben aus der Literatur.

die Felder der Zyklen dunkel gezeichnet (völlig schwarz bei eigenen Versuchen, schraffiert bei Angaben aus der Literatur). Blieben die Pflanzen vegetativ, so ist das durch ein Kreuz (eigene Versuche) bzw. einen Schrägstrich (Angaben aus der Literatur) zum Ausdruck gebracht.

Aus Abb. 25 läßt sich ablesen:

1. In den normalen Tageszyklen, d. h. Zyklen mit einer Gesamtdauer von 24 Std tritt oberhalb der zwölfstündigen kritischen Tageslänge keine Blütenbildung mehr ein, weil die Dunkelzeiten zu kurz sind.

Letzteres ergibt sich daraus, daß bei 13- bzw. 16stündiger Beleuchtungsdauer die Pflanzen Infloreszenzen anlegten, wenn die Dunkelperioden länger sind (15 und mehr Stunden).

2. In Zyklen mit Lichtzeiten von 12 Std und weniger blühen die Pflanzen nur dann, wenn die Dunkelzeiten länger als 10—12 Std sind.

So blühte 6:12, aber 6:10 blühte nicht, 11:11 blühte, und 11:9 blühte nicht usw. Dabei war in Zyklen mit gleichen Lichtzeiten und verschieden langen Dunkelperioden der Übergang von Licht-

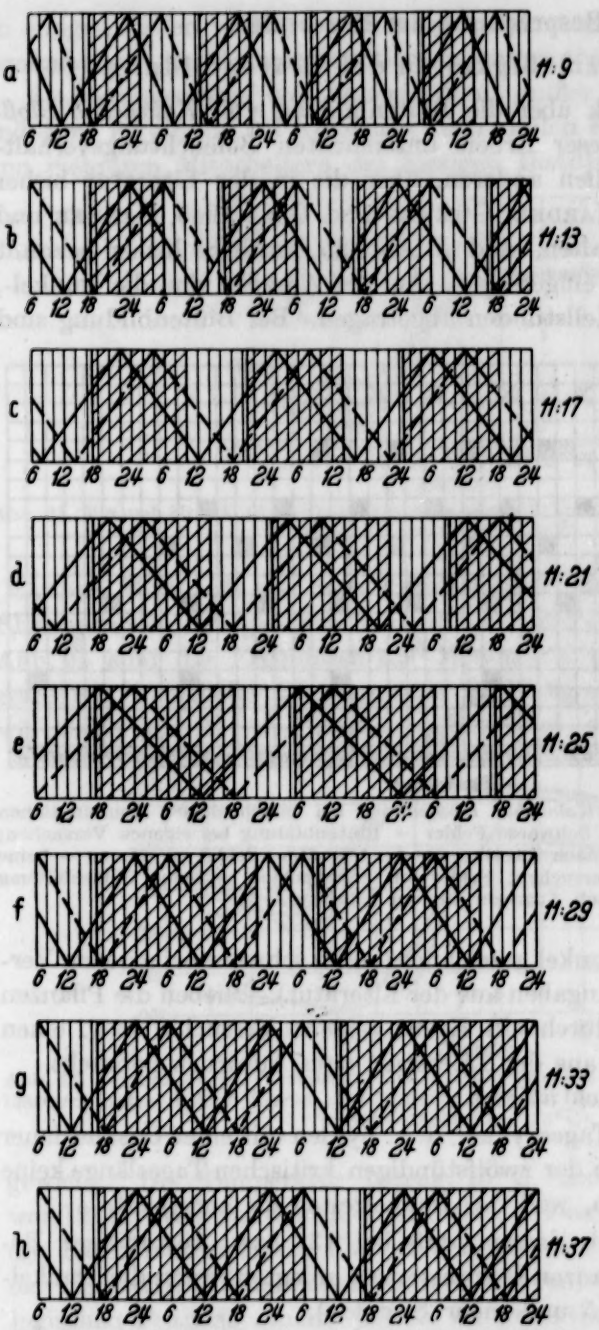


Abb. 26 a—h. Schemata der endogenen Rhythmik für Licht-Dunkelkombinationen mit 11stündigen Hellperioden. Bei den ausgezogenen Linien beginnt in den 24stündigen Tageszyklen die photophile Phase 6 Std vor, bei den gestrichelten Linien mit Lichtbeginn.

12 Std werden mit zunehmender Dauer der Beleuchtung die Blühbedingungen immer schlechter.

Dunkelkombinationen, bei denen die Pflanzen vegetativ blieben, und solchen, bei denen sie blühten, ziemlich plötzlich, denn bei 11:$\overline{9}$ erfolgte kein Blühen, bei 11:$\overline{13}$ aber schon nach 21,4 Tagen; 13:$\overline{12}$ blühte nicht, 13:$\overline{15}$ nach 30,4 Tagen. Mit weiterer Verlängerung der Dunkelstunden nahm dann die Blühtendenz im allgemeinen nur sehr langsam ab. So erschienen die Infloreszenzanlagen bei 11:$\overline{13}$ nach 21,4, bei 11:$\overline{25}$ nach 22 und bei 11:$\overline{37}$ nach 26,8 Tagen. (Weitere Beispiele in Tabellen 1, 2 und 3.) In sämtlichen untersuchten Zyklen mit Lichtzeiten bis zu 12 Std trat, das sei noch einmal hervorgehoben, Blütenbildung ein, wenn die Dunkelperiode nicht zu kurz war (s. Abb. 25). Aus alledem geht aber die Wichtigkeit der Dunkelstunden hervor, die einen bestimmten Schwellenwert überschreiten müssen, um die zur Blütenbildung führenden Prozesse zu ermöglichen.

3. In Zyklen mit Hellperioden von mehr als

So erscheinen in Licht-Dunkelwechseln mit 11stündigen Hellperioden die Infloreszenzen nach 21,4—26,8 Tagen (Tabelle 2), bei Kombinationen von 13 Std Licht und verschieden langen Dunkelzeiten wurden die Infloreszenzen erst nach 30,4—32,2 Tagen sichtbar (Tabelle 3), und bei Zyklen mit 16stündigen Hellperioden waren sie sogar erst nach 45 bis 66,8 Tagen erkennbar (Tabelle 4). In den Zyklen mit 19stündigen Lichtzeiten blieben sämtliche Pflanzen vegetativ.

Das photoperiodische Verhalten von *Kalanchoë* zeigt demnach das für Kurztagspflanzen gewohnte Bild. Die untere kritische Tageslänge ist aber kleiner als 1 sec, da nach HARDER und GÜMMER (1948) auch bei dieser Lichtzeit noch Infloreszenzen angelegt wurden. Der Begriff „obere kritische Tageslänge" hat dagegen nur noch dann Sinn, wenn man ihn auf den 24-Std-Zyklus bezieht, denn längere Dunkelzeiten, die oberhalb der kritischen Tageslänge des 24-Std-Tages liegen (z. B. 16 Std Licht bei 16 bis 29 Dunkelstunden), können auch noch zur Blütenbildung führen.

2. Blütenbildung in den verschiedenen Beleuchtungsrhythmen und BÜNNINGs Theorie.

Zur Erklärung der mannigfaltigen photoperiodischen Erscheinungen hat BÜNNING eine umfassende Theorie entwickelt.

Nach ihr besitzen die höheren Pflanzen bekanntlich eine innere endogene Rhythmik, die an verschiedenen physiologischen Prozessen in Erscheinung tritt; sie besteht aus 2 Phasen, der photophilen und der skotophilen. Belichtung wirkt in der photophilen Phase auf die Blütenbildung fördernd, in der skotophilen hemmend. Die endogene Rhythmik wird besonders durch den täglichen Licht-Dunkelwechsel einreguliert.

Die Theorie hat manche Wandlung durchgemacht. In den ursprünglichen Phasenkonstruktionen (1944 I) ließ BÜNNING die photophile Phase bei Kurztagspflanzen in 24-Std-Zyklen etwa 6 Std vor Lichtbeginn anfangen. Er stützte sich dabei auf zahlreiche Blattbewegungskurven, vor allem von PFEFFER (1915) und KLEINHOONTE (1932), zum Teil auch von ihm selber. Die Periode der Blatthebung soll die photophile Phase, die der Blattsenkung die skotophile widerspiegeln.

Später hat BÜNNING dann aber den Phasenwechsel auf ganz andere Zeitpunkte verlegt. 1944 II hieß es: „Bei Kurztagspflanzen erfolgt die Steuerung so, daß die photophile Phase (erkennbar an der durch Aziditätsverminderung bedingten Blatthebung, sowie an hoher synthetischer und assimilatorischer Leistungsfähigkeit) bald nach Beleuchtungsbeginn einsetzt." In dem seiner Arbeit beigefügten Schema (Abb. 10) tritt dagegen die photophile Phase 2 Std *vor* Beleuchtungsbeginn ein. 1946 läßt BÜNNING dann die photophile Phase wieder wie im Text von 1944 II nach Beginn des Lichtreizes anfangen. In Fig. 3 dieser Arbeit setzt aber auch die Blatthebung mit dem Beleuchtungsbeginn ein, was aber mindestens nicht allgemein zutrifft, denn bei den meisten bis dahin auf ihre Blattbewegung untersuchten Kurztagspflanzen beginnt die Blatthebung schon viel früher noch in der Dunkelperiode. Das BÜNNINGsche Schema von 1946 entbehrt also der überzeugenden experimentellen Unterlage. Auf diese Punkte ist auch schon öfter hingewiesen worden (HARDER und GÜMMER 1949, FLÜGEL 1949).

In seiner neuesten Arbeit (1951) sucht BÜNNING diese Widersprüche zu beseitigen, indem er den Beginn der photophilen Phase wieder kurz vor Lichtbeginn

einsetzt und betont, es sei „eine Angelegenheit weiterer Beobachtung, festzustellen, ob die allein durch die Art der photoperiodischen Empfindlichkeit charakterisierten Phasen immer am Verlauf der Blattbewegungen erkennbar sind".

Die endogene Rhythmik kann sich nach BÜNNING (1944 I) bis zu einer Zyklenlänge von 36 Std dem Außenrhythmus anpassen. Die dabei auftretenden Gesetzmäßigkeiten hat BÜNNING (1944 I) ausführlich dargelegt, und es erübrigt sich, hier noch einmal näher auf sie einzugehen. Unter Anwendung der BÜNNINGschen Gesichtspunkte ist die Abb. 26 entstanden. Sie enthält die Konstruktionsschemata der endogenen Rhythmik für die in dieser Arbeit mit einer 11stündigen Hellperiode durchgeführten Zyklen.

Dabei ist sowohl die von BÜNNING zunächst vertretene Ansicht berücksichtigt, wonach die photophile Phase 6 Std vor Lichtbeginn einsetzt, wie die spätere, bei der sie ungefähr mit Beleuchtungsbeginn zusammenfällt. Nimmt man den Beginn der photophilen Phase 6 Std vor der Lichteinschaltung an, so resultieren nach BÜNNINGS Konstruktionsangaben die ausgezogenen Linien der Abb. 26, im anderen Falle die gestrichelten. Zwischen diesen beiden Werten pendeln die BÜNNINGschen Annahmen. Die absteigenden Kurvenäste bedeuten in Abb. 26 die photophile, die aufsteigenden die skotophile Phase. Ist die Zyklenlänge größer als 36 Std, dann soll nach BÜNNING die 12:12stündige Tagesrhythmik wieder in Erscheinung treten (Teilfiguren f, g und h der Abb. 26). Die Dunkelstunden sind in der Abbildung schraffiert. In den beiden Teilfiguren a und b für den 11:9- und 11:13stündigen Beleuchtungswechsel fallen bei den ausgezogenen Linien 6 Std Licht in die photophile, 5 Std in die skotophile Phase. Das Blühergebnis müßte also bei beiden Zyklen gleich sein. Dennoch blieben die Pflanzen bei der 9stündigen Dunkelperiode vegetativ, während sie bei der 13stündigen schon nach 21,4 Tagen (was sehr rasch ist) Infloreszenzen angelegt hatten. Die beiden Rhythmen unterscheiden sich darin, daß die photophile Phase bei 11:9 4 Std kürzer ist; da diese Zeit bei 11:13 aber in der Dunkelheit liegt und so photoperiodisch nicht oder nur sehr schwach wirksam sein kann, bleibt das Ergebnis nach den BÜNNINGschen Vorstellungen unverständlich. Läßt man die photophile Phase in den Tageszyklen mit Lichtbeginn anfangen (gestrichelte Linien), dann fallen bei 11:9 im Gegensatz zu 11:13 4 Std Licht in das Ende der skotophilen Kurvenabschnitte. Das muß natürlich hemmend auf die Blütenbildung wirken, so daß das Vegetativbleiben im 11:9-Rhythmus sich also bei dieser Konstruktion mit den BÜNNINGschen Ansichten vertreten läßt. Aus den folgenden Licht-Dunkelkombinationen geht aber hervor, daß in anderen Fällen auch die gestrichelten Kurven die Blühverhältnisse bei *Kalanchoë* nicht verständlich machen können. Ein Blick auf die Kurven a—e zeigt nämlich, daß mit zunehmender Zykluslänge immer mehr Lichtstunden in die skotophile Phase fallen (bei *e* erhält sogar nur die skotophile Phase Licht, die photophile überhaupt nicht), und trotzdem blühten die Pflanzen in diesen Zyklen, was nach BÜNNINGS Theorie unmöglich ist; von 11:17 über 11:21 bis 11:25 war nicht einmal eine Abnahme der Blühtendenz bemerkbar (Sichtbarwerden der Infloreszenzen nach 22,4, 22,2 und 22,0 Tagen), und sämtliche Blütenstände waren unverlaubt. In den längeren Zyklen (f—h) setzt sich nach BÜNNING die 12:12stündige Tagesrhythmik wieder durch, da der endogene Phasenwechsel den Beleuchtungsverhältnissen nicht mehr folgen kann. Dadurch erhalten einige photophile Phasen Licht. Eine wenn auch abgeschwächte Blütenbildung wäre also möglich. Das traf auch zu. Die erhaltenen Blühdaten (bei 11:29 war der Blühtermin 24,8, bei 11:33 24,2 und bei 11:37 26,8) dürften aber mit den aus den

Schemata (Abb. 26f, g, h) zu folgernden Ergebnissen quantitativ wohl kaum übereinstimmen.

Solche Kurvenkonstruktionen habe ich auch für die übrigen in dieser Arbeit geprüften Zyklen durchgeführt. Es erübrigt sich, sie hier wiederzugeben, da auch bei ihnen die Blühergebnisse sich nicht mit den Lichtwirkungen auf die photo- und skotophile Phase erklären lassen. Zudem geht schon aus Abb. 26 hervor, daß immer bei Hell-Dunkelkombinationen mit gleichen Lichtperioden und verschieden langen Dunkelzeiten zwischen dem 24- und 48-Std-Zyklus ein Bereich auftritt, in dem die Pflanzen nach BÜNNING verzögert blühen oder vegetativ bleiben müßten. In allen in dieser Hinsicht untersuchten Rhythmen trat aber Blütenbildung ein (s. Abb. 25).

Die Blühergebnisse bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* lassen sich also mit der BÜNNINGschen Theorie nicht erklären. Nun ist ja allerdings BÜNNING bei Aufstellung seiner Theorie von anderen Objekten als *Kalanchoë* ausgegangen. Es bleibt daher immer noch die Möglichkeit offen, daß die endogene Rhythmik dieser Pflanze aus unbekannten Gründen anderen Gesetzmäßigkeiten unterworfen ist. Da Blattbewegungen bei *Kalanchoë* bisher nicht festgestellt werden konnten, sind Tests für rhythmische Prozesse bei diesem Objekt lange Zeit unbekannt geblieben, bis es HEIMANN (1950) gelang, periodische Schwingungen der Guttation festzustellen. Auch die Blütenblätter zeigen endogene rhythmische Bewegungen. Nach HARDER (1949) läßt sich aber aus keinem der beobachteten rhythmischen Prozesse eine solche Lage der photophilen und skotophilen Phase ableiten, daß damit eine Erklärung aller bisher bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* beobachteten Blühdaten möglich wäre. Deshalb wurde im 2. Teil dieser Arbeit die Atmung von *Kalanchoë* näher untersucht, die nach BÜNNING (1937) ja eine wesentliche Rolle in der Kette der endonom ablaufenden chemischen Prozesse in der Pflanze spielt. Die Beobachtung ihres Ablaufs im Dauerdunkel muß Einblicke in den endogenen Phasenwechsel auch bei *Kalanchoë* gewähren und könnte vielleicht ihr photoperiodisches Verhalten verständlich machen.

3. Die Gesetzmäßigkeiten der endogenen Atmungsrhythmik und BÜNNINGS Theorie.

1. *Kalanchoë Bloßfeldiana* besitzt eine an der CO_2-Abgabe im Dauerdunkel erkenntliche endogene Rhythmik. Sie ist nicht sehr ausgeprägt und außerdem stark von Außenfaktoren abhängig.

Die beobachteten 12:12stündigen Schwingungen ließen sich im Dauerdunkel aber kaum länger als 24 Std verfolgen; ihre Extrempunkte hatten auch nicht in allen Fällen die gleiche Lage, sondern waren mitunter um einige Stunden verschoben. Es ist kaum anzunehmen, daß diese 12:12stündige Rhythmik sich bei langen Zyklen durchsetzt, wie BÜNNING es in seiner Theorie annimmt.

2. In 24stündigen Zyklen mit Lichtperioden von 12 und weniger Stunden ist der Dunkelbeginn für den Einsatz der Rhythmik der Nachschwingungen maßgebend.

Diese Erkenntnis steht aber in scharfem Gegensatz zu den BÜNNINGschen Konstruktionsschemata. Bei ihnen liegt überall der Lichtbeginn als Ausgangspunkt der Phasenverschiebung zugrunde. Dabei stützt sich BÜNNING auf zahlreiche in der Literatur auffindbare und aus eigenen Untersuchungen gewonnene Blattbewegungskurven, zu denen noch neuerdings FLÜGEL (1949) weitere hinzufügen konnte, die ebenfalls zeigen, daß bei *Phaseolus multiflorus* der Beleuchtungsbeginn für die Blattbewegung ausschlaggebend ist. Die endogene Rhythmik bei *Kalanchoë* folgt demnach ganz anderen Gesetzmäßigkeiten.

3. In 24-Std-Zyklen mit längeren Hellperioden als 12 Std spielt auch die Dauer der Lichtzeit für den Verlauf der Atmungskurven eine Rolle.

Der Zeitraum der verminderten CO_2-Abgabe nach Beginn der Dunkelheit wurde nämlich mit längeren Lichtperioden immer kürzer (s. Abb. 12—15). Das wäre verständlich, wenn auch in einer länger als 12 Std dauernden Belichtung ein endogener Wechsel in der Atmungsintensität (Umschwung zu verminderter CO_2-Abscheidung) stattfinden würde. Dann beginnt ja die Periode der verminderten CO_2-Abgabe schon vor Einsetzen der Dunkelzeit, so daß der anschließende Zeitpunkt der erhöhten Kohlensäureabgabe in den Atmungskurven entsprechend früher einsetzen würde. Durch die Untersuchungen der Guttation (HEIMANN 1950) ist das Vorhandensein eines derartigen Phasenwechsels tatsächlich nachgewiesen worden. In den Atmungskurven lagen die Verhältnisse bei den Zyklen mit langen Lichtperioden aber schwieriger. Die Maxima ließen eine derartige Beziehung zum Lichtbeginn nicht erkennen; sie lagen in den meisten Fällen später (s. Abb. 13—15), und die Zeitspanne vom Minimum bis zum Maximum der Kurven war größer als 12 Std (meist 15—18 Std). Mit BÜNNINGS Theorie stehen die Ergebnisse nur insofern in Einklang, als sie zeigen, daß auch im Licht endogene Prozesse ablaufen müssen, die bei den betreffenden Zyklen eine Vorverlegung der Minima im Dauerdunkel nach sich ziehen. Für die zeitliche Lage der Maxima müssen aber andere Gesetzmäßigkeiten gelten, als BÜNNING angibt.

4. Sowohl bei Kurzzyklen als auch bei Langzyklen mit Lichtperioden von weniger als 12 Std erfolgt der Atmungsverlauf im Dauerdunkel unabhängig von der photoperiodischen Behandlung.

Da die Atmungskurven bei den verschiedenen Hell-Dunkelverhältnissen stets ungefähr das gleiche Bild ergaben, ist demnach die Fähigkeit, sich einem Außenrhythmus in den Nachschwingungen anzupassen, sehr gering. Auch die Guttationsuntersuchungen von HEIMANN (1950) an *Kalanchoë Bloßfeldiana* lassen das erkennen. Seine Ergebnisse stimmen bis zu einem gewissen Grade gut mit den gefundenen Gesetzmäßigkeiten der Atmungsrhythmik überein. Denn auch die zeitlichen Maximal- und Minimallagen der Tropfenbildung waren bei den vorgenommenen Veränderungen der Hell-Dunkelrhythmen durch große Stetigkeit gekennzeichnet. Im 12:12stündigen Beleuchtungswechsel zeigten die Pflanzen aber die niedrigste und höchste Guttationsintensität nicht am Ende der jeweiligen Hell- bzw. Dunkelperiode, sondern die Extrempunkte der Kurven lagen stets in deren Mitte. Die Guttation zeigt also gegenüber der Atmung eine 6stündige Phasenverschiebung. HEIMANN konnte ferner zeigen, daß bei kurzen Licht- und Dunkelzeiten die Guttationsintensität lediglich von den Beleuchtungsverhältnissen abhängig war, d. h. im Licht sank sie ab, in der Dunkelheit stieg sie wieder an. Der

Ablauf der endogenen Prozesse würde demnach hauptsächlich durch die Außenfaktoren (Licht, Dunkelheit) bestimmt. Nur so ist es auch verständlich, warum nach mehrtägigen Dauerlichtzeiten, in denen die Guttationsrhythmik ganz erlosch, schon *eine* Dunkelperiode genügte, um den Rhythmus in der gewohnten Weise hervorzurufen und nach langen Dunkelzeiten jede neue Beleuchtung die alte Atmungsrhythmik wieder in Gang setzte (Abb. 20). Die Wirkung einer endogenen Rhythmik trat bei HEIMANNS Untersuchungen erst in Zyklen mit langen Licht- bzw. Dunkelperioden hervor, die zu bestimmten Zeiten einen Phasenwechsel hervorriefen. Offenbar findet etwas Ähnliches auch bei der Atmung statt und führt nach im allgemeinen 12 Std Dunkelheit zu erhöhter CO_2-Abgabe. Diese Reaktionsweise macht aber auch verständlich, warum die BÜNNINGschen Konstruktionsschemata nicht zutreffen können, denn gegenüber der Wirkung von Licht und Dunkelheit auf den Ablauf der Prozesse tritt die Bedeutung der endogenen Rhythmik bei *Kalanchoë* offenbar ganz zurück.

In Langzyklen (Abb. 21) mit länger als 12 Std dauernden Lichtperioden werden Minima und Maxima früher erreicht. Hier scheint ebenfalls wie bei den 24stündigen Tageszyklen mit langen Lichtzeiten ein endogener Wechsel in der Atmungsintensität (Umschwung zu verminderter CO_2-Ausscheidung) schon während der Hellperiode stattgefunden zu haben. In diesen Zyklen spielt darum auch der Lichtbeginn für den Verlauf der endogenen Rhythmik eine Rolle.

Überblickt man noch einmal die obigen Ausführungen, so wird deutlich, daß der im 2. Abschnitt unternommene Versuch, die Blühdaten von *Kalanchoë* nach den bisherigen BÜNNINGschen Annahmen zu erklären, fehlschlagen mußte. Sämtliche Voraussetzungen über den Verlauf der endogenen Rhythmik bei den verschiedensten Beleuchtungsverhältnissen haben sich als nicht zutreffend erwiesen. Will man nun die Blühdaten bei *Kalanchoë* unter Beachtung der aus den Atmungskurven erschlossenen Gesetzmäßigkeiten für die geprüften Zyklen verständlich machen und nur noch den BÜNNINGschen Grundgedanken beibehalten, nämlich, daß es 2 Phasen einer endogenen Rhythmik gibt, in denen das Licht auf die zur Blütenbildung führenden Prozesse verschieden wirkt, dann muß man zunächst einmal versuchen, die photo- und skotophilen Phasen festzulegen. Nach BÜNNING (1946) soll sich die photophile Phase der endogenen Rhythmik unter anderem durch geringe Atmung auszeichnen, dagegen soll letztere in der skotophilen Phase erhöht sein. Verwendet man nun als Maß der Atmung die abgegebene CO_2-Menge, dann ergibt sich ein völlig untragbares Bild. So würde z. B. im 12:12stündigen Tageszyklus (Abb. 6 und 7) die photophile Phase in der Nacht und die skotophile am Tage liegen. Die Pflanzen müßten vegetativ bleiben, was im Experiment aber nicht eintrat (HAUSCHILD 1943). Nun besitzt *Kalanchoë* den typischen Gasstoffwechsel der Crassulaceen, und aus den Arbeiten von PURJEWICZ (1892), WOLF (1931, 1938, 1949), RUHLAND (1934) und THOMAS (1949) geht hervor, daß Pflanzen mit solchen und ähnlichen Atmungskurven, wie sie bei *Kalanchoë* gefunden wurden, diurnale Säureschwankungen haben. WOLF (1931) und THOMAS und BEEVERS (1949) konnten ferner zeigen, daß der

Zeitraum der verminderten CO_2-Abgabe in der Dunkelperiode fast stets mit Säureanhäufung verbunden war, während bei Absäuerung im allgemeinen erhöhte CO_2-Abgabe stattfand. Da nach BÜNNING (1946) photo- und skotophile Phasen sich durch verminderte bzw. erhöhte Azidität auszeichnen können, scheint es berechtigt zu sein, bei *Kalanchoë* als photophile Phase den Zeitraum erhöhter CO_2-Abgabe (Absäuerungsphase) und als skotophile Phase die Periode der verminderten Kohlensäureausscheidung (Ansäuerungsphase) zu bezeichnen. Die so definierten Phasen würden aber bei *Kalanchoë* mit dem in BÜNNINGS neuester Arbeit (1951) gegebenen Schema der endogenen Rhythmik nicht übereinstimmen. Bei diesem Schema, das BÜNNING durch solche Versuche aus der Literatur stützt, aus denen die photoperiodische Empfindlichkeit der Pflanzen hervorgehen soll, liegt nämlich wieder der Lichtbeginn als Ausgangspunkt der Konstruktion zugrunde. Die Atmungskurven haben aber gezeigt, daß mindestens für alle Tageszyklen mit Lichtperioden von 12 Std und weniger der Dunkelbeginn für den Verlauf der endogenen Rhythmik bestimmend ist. Hält man nun das Schema aufrecht, dann können die gefundenen Atmungsschwankungen kein Test der endogenen Rhythmik sein. Läßt man umgekehrt das Schema fallen und gibt der endogenen Rhythmik die aus den Atmungskurven erschlossenen Gesetzmäßigkeiten und definiert als skoto- und photophile Phase den Zeitraum verminderter bzw. erhöhter CO_2-Abgabe, so ließe sich das photoperiodische Verhalten von *Kalanchoë* verständlich machen. So würden beispielsweise alle Pflanzen in Rhythmen mit Lichtperioden bis zu 12 Std blühen, bei denen die Dunkelperioden mindestens 9—12 Std betragen, denn die verminderte CO_2-Abgabe (skotophile Phase) dauerte in den Atmungskurven etwa 9—12 Std (Abb. 6—10 und 17—20). Das Licht fällt dann nur in die blühfördernde photophile Phase. Tatsächlich kamen im Experiment die Pflanzen solcher Hell-Dunkelkombinationen auch alle zum Blühen (s. Abb. 25). Um auch die Blühdaten bei Rhythmen mit langen Lichtperioden verständlich zu machen, müßte man den zeitlichen Verlauf der endogenen Rhythmik während der Hellperiode kennen. In den Atmungskurven dieser Hell-Dunkelwechsel (Abb. 12—15 und 21) war die photophile Phase (Zeitraum verminderter CO_2-Abgabe) kürzer als bei Rhythmen mit bis zu 12stündigen Hellperioden. Es ist daher anzunehmen, daß die skotophile Phase der Langtagsrhythmen schon während der Lichtzeit anfängt und so die Blütenbildung hemmt. Nun kann man aus den Atmungskurven im Dauerdunkel gesicherte Aussagen über den Verlauf der endogenen Rhythmen nur für die Dunkelzeit der betreffenden Zyklen machen; denn ob in der Lichtperiode die Atmung so verläuft (man kann sie ja leider nicht experimentell nachweisen) wie die Nachschwingungen im Dauerdunkel ergeben, bleibt für *Kalanchoë* jedenfalls fraglich. Man müßte demnach zunächst einmal

durch quantitative Säuremessungen feststellen, ob und inwieweit eine An- und Absäuerung für verschiedene Hell-Dunkelwechsel auch im Licht beobachtet werden kann und ob man aus den Atmungskurven im Dauerdunkel auch Aussagen über den zeitlichen Verlauf der Rhythmik in der Hellperiode machen kann. Erst dann könnte man versuchen, mit Hilfe der erhaltenen Ergebnisse die Blühdaten sämtlicher Zyklen zu erklären.

4. Der Säurestoffwechsel.

Es wurde schon gesagt, daß die Crassulaceen (zu denen auch *Kalanchoë* gehört) eine tägliche Periodizität im Säuregehalt der Blätter zeigen, und zwar soll, wie aus zahlreichen Arbeiten (Warburg 1888, Wolf 1931, 1938, 1949, Bennet-Clark 1932, 1933a, Bonner 1948, Thomas und Beevers 1949 u. a.) hervorgeht, im Dunkeln der Säuregehalt zu-, im Lichte dagegen wieder abnehmen. Dabei soll die Ansäuerung in der Nacht von verminderter, die Absäuerung von erhöhter CO_2-Abgabe begleitet sein; da während der Ansäuerung von keinem Autor und auch in den vorstehenden Versuchen nie eine Einschränkung der O_2-Aufnahme festgestellt wurde, blieben die Atmungsquotienten stets kleiner als 1 (Abb. 23). Dagegen hatten die verschiedenen Hell-Dunkelkombinationen auf die Kohlensäureausscheidung im Dauerdunkel und damit offenbar auch auf den Säuregehalt dieser Pflanze eine sehr unterschiedliche Wirkung.

So war bei allen Atmungskurven der Rhythmen mit 6—12stündigen Hellperioden die CO_2-Ausscheidung im Dauerdunkel zunächst sehr gering (Abb. 6, 8 und 17—20). Wurde die Lichtzeit aber verringert, dann stieg die Kohlensäureabgabe zu Beginn der Atmungsmessung stark an (Abb. 9 und 10). Das mag durch den Säurestoffwechsel bedingt sein, denn vermutlich können erst lange Belichtungszeiten (6—12 Std) die in der Dunkelheit gebildeten Säuren so weit abbauen, daß *Kalanchoë* erst dann wieder in einer erneuten Dunkelperiode mit erhöhter Säurebildung beginnen kann. Diese erhöhte Säurebildung müßte von stark verminderter CO_2-Ausscheidung begleitet sein, und die entsprechenden Atmungskurven bestätigen die Vermutung (Abb. 6, 8, 17—20). 1—3stündige Lichtzeiten reichen offenbar dann nicht mehr aus, die in der Dunkelheit gebildeten Säuren vollkommen abzubauen. In solchen Hell-Dunkelkombinationen (3:$\underline{21}$ und 1:$\underline{23}$ in Abb. 9 und 10) war dann auch die Kohlensäureabgabe zu Beginn der Dunkelperiode sehr erheblich, und dementsprechend müßte die Ansäuerung schwächer sein.

In Langtagsrhythmen (Lichtzeit länger als 12 Std) wurde der Zeitraum verminderter CO_2-Abgabe (Ansäuerung) entsprechend der Länge der Lichtperiode immer kürzer (Abb. 12—15), bis schließlich bei 21:$\underline{3}$ und 23:$\underline{1}$ (Abb. 14 und 15) gleich nach Dunkelbeginn die Atmungskurven ansteigen und demnach die Absäuerung einsetzen müßte. Da

aber eine Absäuerung erst nach einer Ansäuerung erfolgen kann, ist anzunehmen, daß Pflanzen, die in Rhythmen mit langen Lichtzeiten standen, schon während der Hellperiode mit der Ansäuerung begannen. Diese Lichtansäuerung ist auch in der Tat schon oft beobachtet worden (WARBURG 1888, WOLF 1938, THOMAS 1949 u. a.), und THOMAS und BEEVERS (1949) glauben, dafür eine zu geringe Lichtintensität oder eine erhöhte CO_2-Konzentration der Luft verantwortlich machen zu können. Aber gerade diese Faktoren waren während der obigen Versuche immer konstant gehalten worden. Ohne Zugrundelegung einer endogenen Rhythmik wird man die diurnalen Säureschwankungen der Crassulaceen wohl kaum erklären können.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

Kalanchoë Bloßfeldiana wurde in folgenden Licht-Dunkelrhythmen gehalten:

a) mit 4stündigen Hellperioden und 20, 28, 36 und 44 Std Dunkelheit;

b) mit 8stündigen Hellperioden und 16, 20, 24, 28, 32, 36 und 40 Std Dunkelheit;

c) mit 11stündigen Hellperioden und 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33 und 37 Std Dunkelheit;

d) mit 13stündigen Hellperioden und 12, 15, 19, 23, 27, 31 und 35 Std Dunkelheit;

e) mit 16stündigen Hellperioden und 13, 17, 21, 25, 29 und 32 Std Dunkelheit;

f) mit 19stündigen Hellperioden und 11, 15, 19, 23, 26 und 29 Std Dunkelheit.

Dabei hat sich ergeben:

1. In sämtlichen Rhythmen trat Blütenbildung ein außer bei 11:9, 13:12, 16:13, 16:32 und den Zyklen mit 19stündigen Hellperioden.

2. Pflanzen, die vor Beginn der Kurztaginduktion längere Zeit im Dauerdunkel oder Dauerlicht standen, blühten früher.

Um die Gesetzmäßigkeiten der endogenen Rhythmik durch Messung der CO_2-Abgabe im Dauerdunkel festzustellen, wurde *Kalanchoë* vor Versuchsbeginn folgenden Licht-Dunkelwechseln ausgesetzt:

a) im 24stündigen Zyklus: 1:23, 3:21, 6:18; 9:15, 12:12, 15:8, 18:6, 21:3, 23:1 und Dauerlicht;

b) in Kurzzyklen: 6:6, 9:9, 3:12 und 6:12;

c) in Langrhythmen: 6:24, 9:21, 9:39, 16:16.

Dabei wurde gefunden:

3. *Kalanchoë Bloßfeldiana* besitzt eine an der CO_2-Abgabe im Dauerdunkel erkenntliche endogene Rhythmik. Sie ist nicht sehr ausgeprägt und stark von Außenfaktoren abhängig.

4. Im 24-Std-Zyklus mit Lichtperioden von 12 Std und weniger war der Dunkelbeginn für die Rhythmik der Nachschwingungen maßgebend. 12 Std nach Dunkelbeginn lag stets ein Minimum, 12 Std später ein Maximum.

5. Je kürzer in den 24stündigen Tageszyklen die Lichtperioden wurden, um so stärker erfolgte die CO_2-Abgabe nach Dunkelbeginn.

6. Im 24-Std-Zyklus mit längeren Hellperioden als 12 Std spielte auch die Dauer der Lichtzeit für den Verlauf der Atmungskurven eine Rolle. Die Minima und Maxima lagen für die betreffenden Rhythmen zu verschiedenen Zeitpunkten und meistens früher.

7. Sowohl bei Kurz- als auch bei Langzyklen mit Lichtperioden von weniger als 12 Std erfolgte der Atmungsverlauf im Dauerdunkel unabhängig von der photoperiodischen Behandlung. Mit Verlängerung der Lichtperioden wurden die Extrempunkte meistens 9 bzw. 21 Std nach Dunkelbeginn erreicht.

8. Die O_2-Aufnahme im Dauerdunkel zeigte keine Rhythmik. Der Atmungsquotient blieb in den ersten Stunden nach Dunkelbeginn stets kleiner als 1, um später den Wert 1 zu erreichen.

9. Die CO_2-Abgabe der Blütenblätter war stärker als die der Laubblätter. Der Umschwung zu erhöhter bzw. verminderter CO_2-Abgabe erfolgte bei den Blütenblättern 3 Std früher.

10. Es wird Stellung zu Bünnings Theorie genommen.

Herrn Professor Dr. Harder danke ich aufrichtig für die stete Förderung der Arbeit.

Literatur.

Arnold, A.: Der Verlauf der Assimilation von *Helodea canadensis* unter konstanten Außenbedingungen. Planta (Berl.) **13**, 529 (1931). — Beiler, A., u. E. Schratz: Zur Methodik der CO_2-Bestimmung auf konduktometrischem Wege. Jb. Bot. **85**, 355 (1937). — Bennet-Clark, T. A.: The respiratory quotients of succulent plants. Sci. Proc. roy. Dublin Soc. **20**, 293 (1932). — The role of the organic acids in plant metabolism. I. New Phytologist **32**, 37 (1933a). — The role of the organic acids in plant metabolism. II. New Phytologist **32**, 128 (1933b). — Bonner, J., and W. Bonner: The role of carbon dioxide in acid formation of succulent plants. Amer. J. Bot. **35**, 113 (1948). — Bünning, E.: Die endogene Tagesrhythmik als Grundlage der photoperiodischen Reaktion. Ber. dtsch. bot. Ges. **54**, 590 (1937). — Endogene Tagesrhythmik und Photoperiodismus bei Kurztagspflanzen. Biol. Zbl. **64**, 161 (1944). — Die entwicklungsphysiologische Bedeutung der endonomen Tagesrhythmik bei den Pflanzen. Naturwiss. **33**, 271 (1946). — Weitere Versuche über die Beziehung zwischen endogener Tagesrhythmik und Photoperiodismus. Z. Naturforschg **3b**, 457 (1948). — Über die photophile und skotophile Phase der endogenen Tagesrhythmik. Planta (Berl.) **38**, 521 (1950). — Ehrenberg, M.: Beziehungen zwischen Fermenttätigkeit und Blattbewegung bei *Phaseolus multiflorus* unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen. Planta (Berl.) **38**, 244 (1950). — Feldbach, J.: Über die Kohlensäureassimilation grüner Früchte und einiger grüner Blütenteile. Beih. Bot. Zbl. A **58**, 223 (1938). — Flügel, A.: Die Gesetzmäßigkeit der endogenen Tagesrhythmik. Planta (Berl.)

37, 337 (1949). — Friedmann, Ch.: Die konduktometrische Titration bei der Assimilationsbestimmung. Z. Bot. 26, 285 (1933). — Goebel, K.: Die Entfaltungsbewegungen der Pflanzen. Jena 1924. — Hamner, K. C.: Interrelation of light and darkness in photoperiodic induction. Bot. Gaz. 101, 685 (1940). — Harder, R.: Über die endogene Tagesrhythmik der Fermentaktivität, Guttation und Blütenbewegung bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* und *Phaseolus multiflorus*. Nachr. Akad. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl., biol.-physiol.-chem. Abt. 1949. — Harder, R., u. O. Bode: Über die Wirkung von Zwischenbelichtungen während der Dunkelperiode auf das Blühen, die Verlaubung und die Blattsukkulenz bei der Kurztagspflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) 33, 469 (1943). — Harder, R., O. Bode u. H. v. Witsch: Über Wechselbeziehung zwischen Blütenbildung, Brakteenverlaubung und Sukkulenz der Laubblätter bei *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Flora (Jena) 36, 85 (1942). — Photoperiodische Untersuchungen in kohlensäurefreier Atmosphäre bei der Kurztagspflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Jb. Bot. 91, 381 (1944). — Harder, R., u. G. Gümmer: Über die untere kritische Tageslänge bei der Kurztagspflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) 35, 88 (1948). — Über die Blütenbildung von *Kalanchoë Bloßfeldiana* in verschiedenen Licht-Dunkelrhythmen. Planta (Berl.) 37, 12 (1949). — Harder, R., G. Gümmer u. E. Gall: Über die untere Zeitgrenze der blütenfördernden und blütenhemmenden Lichteinwirkungen bei *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Nachr. Akad. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl. 1945, 48. — Hauschild, J.: Über die an der photoperiodischen Reaktion der Kurztagspflanzen beteiligten Vorgänge. Diss. Math.-naturwiss. Fak. Univ. Göttingen 1943. — Heimann, M.: Einfluß periodischer Beleuchtung auf die Guttationsrhythmik. Planta (Berl.) 38, 157 (1950). — Holborn u. Kohlrausch: Leitvermögen der Elektrolyte, 2. Aufl. 1916. — Kleinhoonte, A.: Untersuchungen über die autonomen Bewegungen der Primärblätter von *Canavalia ensiformis* D.C. Jb. Bot. 75, 679 (1932). — Lang, A., u. G. Melchers: Die photoperiodische Reaktion von *Hyoscyamus niger*. Planta (Berl.) 33, 653 (1943). — Lenzen, G.: Bildung, Leitung und Hemmung der Kurztagwirkstoffe bei *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Diss. Math.-naturwiss. Fak. Univ. Göttingen 1945. — Pfeffer, W.: Beiträge zur Kenntnis der Entstehung der Schlafbewegungen. Abh. sächs. Ges. Wiss. 34, 3 (1915). — Purjewicz, K.: Die Bildung und Zersetzung der organ. Säuren bei höheren Pflanzen. Kiew 1893. Zit. nach Bot. Zbl. 58, 368 (1893). — Ruhland, W.: Der Säurestoffwechsel sukkulenter Pflanzen. Dtsch. Forschg 1934, 23/II. — Senden, L. van: Untersuchungen über den Einfluß von Heteroauxin und anderen Faktoren auf die Blütenbildung bei der Kurztagspflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (im Druck). — Thomas, M.: Physiological studies on acid metabolism in green plants. I. CO_2-fixation and CO_2-liberation in Crassulacean acid metabolism. New Phytologist 48, 390 (1949). — Thomas, M., and H. Beevers: II. Evidence of CO_2-Fixation in Bryophyllum and the study of diurnal variation of acidity in this genus. New Phytologist 48, 421 (1949). — Warburg, O.: Über die Bedeutung der organischen Säuren für Lebensprozesse der Pflanzen. Unters. bot. Inst. Tübingen 2, 53 (1886). — Westphal, M.: Störung der Infloreszenzbildung an kurztagsinduzierter *Kalanchoë Bloßfeldiana* durch photoperiodisch nicht zusagende Lichtverhältnisse. Diss. Math.-Naturwiss. Fak. Univ. Göttingen 1944. — Wolf, J.: Beitrag zur Kenntnis des Säurestoffwechsels sukkulenter Crassulaceen. Planta (Berl.) 15, 572 (1931). — Beiträge zur Kenntnis des Säurestoffwechsels sukkulenter Crassulaceen. Planta (Berl.) 28, 60 (1938). — Beiträge zur Kenntnis des Säurestoffwechsels sukkulenter Crassulaceen. Planta (Berl.) 37, 451 (1949).

Planta, Bd. 39, S. 309—337 (1951).

Aus dem Staatsinstitut für allgemeine Botanik Hamburg.

DAS LICHT ALS URSACHE PERIODISCHER GUTTATIONS-SCHWANKUNGEN ETIOLIERTER HAFERKEIMLINGE.

Von

HORST ENGEL und INGEBORG FRIEDERICHSEN.

Mit 18 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Januar 1951.)

Einleitung.

In einer früheren Mitteilung war vermutet worden (ENGEL und HEIMANN 1949), daß als Ursache der Guttationsschwankungen des Hafers vielleicht Wachstumsreaktionen in Frage kommen, die von außen, etwa vom Licht, induziert werden. Will man dieser Frage nachgehen, ist es notwendig, den Verlauf der Guttation im Dunkeln unter möglichst konstanten Bedingungen festzustellen. Eine solche Untersuchung stößt auf bedeutende experimentelle Schwierigkeiten, da es nicht möglich ist, die in Frage stehenden geringen Wassermengen im Dunkeln von der Pflanze einwandfrei zu entfernen.

Zunächst versuchten wir daher eine Lichtart zu finden, die auf den Guttationsverlauf ohne Einfluß ist, und fingen mit dem bei Lichtwachstumsmessungen häufig benutzten roten Licht an. Später wurden auch andere Lichtarten hinzugenommen. HEIMANN (1950) gibt an, daß dunkelgrünes Licht die Guttation von *Kalanchoë Bloßfeldiana* nicht beeinflußt. Alle von uns geprüften Lichtarten erwiesen sich jedoch als wirksam, auch das grüne Licht. Sie alle führten zu einer auffallenden Guttationsschwankung, die wir als Lichtguttationsreaktion bezeichnen wollen und über welche im folgenden berichtet sei.

Methodik.

Haferkörner (Dippes Siegeshafer) wurden 3 Std lang in Wasser gequollen. Sie wurden dann zu je 5 in Blumentöpfen von 9 cm Durchmesser ausgesät, die mit feuchtem Elbsand gefüllt waren. Jeder Topf stand in einer flachen Glasschale unter einem etwa 2 Liter fassenden Glasstutzen, dessen Wandung innen teilweise mit einer dicken Lage nassen Filtrierpapiers ausgekleidet war. Um jede Möglichkeit der Verdunstung zu verhindern, wurde der Boden der Schale mit Wasser bedeckt, so daß der Rand des Glasstutzens eintauchte und so ein wirksamer Abschluß der feuchten Kammer von der Außenwelt erzielt war. Als Versuchsraum diente ein verdunkelter Keller des Instituts, in welchem sich die Temperatur je nach der Jahreszeit zwar etwas änderte, aber für die Versuchszeit konstant blieb. Ihre Kontrolle erfolgte laufend durch einen Thermographen. Über jeden Glasstutzen kam noch ein Dunkelsturz aus schwarzer Pappe.

Die Pflanzen blieben von der Einsaat der Körner bis zum Versuchsbeginn unter diesen Bedingungen, ohne daß hieran etwas geändert wurde. Das Alter der etiolierten Keimlinge betrug zu Versuchsbeginn meistens 1—2 Tage, vom Zeitpunkt

des Auflaufens gerechnet, oder 4—5 Tage seit der Aussaat. Ihre Koleoptilen waren zu der Zeit 1—1,5 cm lang und noch nicht vom Primärblatt durchbrochen. Während des Versuches verlängerten sich Mesokotyl und Koleoptile beträchtlich, ohne daß das Primärblatt zum Vorschein kam. Eine Stunde vor der ersten Messung wurden die Pflanzen mit Fließpapier sorgfältig getrocknet. Dazu war es notwendig, Dunkelsturz und Glasstutzen für einige Augenblicke zu entfernen und Licht einzuschalten. Das war natürlich eine unerwünschte Unterbrechung der Konstanz der Versuchsbedingungen, war aber nicht zu vermeiden. Nach dieser Arbeit, zu der etwa 15—20 sec erforderlich waren, wurden die ursprünglichen Bedingungen wieder hergestellt. Nach 1 Std wiederholte sich dieses. Jetzt wurden unter den aufgelaufenen Keimlingen zwei möglichst gleichartige ausgesucht, mit Nummern versehen und das von jeder dieser beiden ausgeschiedene Guttationswasser mittels justierter Glaskapillaren aufgesogen. Nach einer weiteren Stunde erfolgte die zweite Messung usw., bis der Versuch beendet war.

Bei jeder Messung trat somit eine kurze, 30—40 sec dauernde, plötzliche Schwankung in den Versuchsbedingungen ein, während welcher die Pflanzen dem Licht und der nicht dampfgesättigten Kellerluft ausgesetzt waren. Außerdem ließ es sich nicht vermeiden, daß die Pflanzen bei der Abnahme der Wassertröpfchen mit den Kapillaren berührt wurden.

In jeden Versuch, soweit nicht anders angegeben, kamen durchschnittlich 10 bis 12 Pflanzen, und zwar 2 je Topf. Da es nicht möglich war, alle Pflanzen gleichzeitig zu messen, mußte für jeden Topf der Zeitpunkt der Messung festgelegt und mit Hilfe eines Weckers genau innegehalten werden. Der Zeitabstand zwischen 2 derartigen Messungen wurde auf 2 min begrenzt, obwohl nur 30—40 sec benötigt wurden.

Ganz besonderer Wert wurde auf die Eichung und Reinigung der Meßkapillaren gelegt, denn von ihnen hing der Erfolg der Versuche ab. Jede Pflanze eines Versuchs erhielt ihre eigene Meßkapillare. Diese bestand aus einem 10—15 cm langen Stück Thermometer-Kapillarrohr, das an einem Ende bleistiftartig zugespitzt war. Mit diesem zugespitzten Ende wurde der Guttationstropfen aufgesogen. Waren die Kapillaren sauber und trocken, schnellte der Tropfen ohne Schwierigkeiten ruckartig in das Lumen. Nach jeder Messung wurden 4—6mal hintereinander 94%iger Alkohol und anschließend so lange Luft durch die Kapillaren gesogen, bis sie vollständig trocken waren. Nur so blieben sie längere Zeit gebrauchsfähig. Nach Beendigung eines jeden Versuchs wurden sie in Chromschwefelsäure aufbewahrt.

Die Eichung der Kapillaren wurde auf optischem Wege vorgenommen, indem der Durchmesser des Lumens an den beiden Enden mit Hilfe eines Horizontalmikroskops je 4mal ermittelt und aus den 8 Werten der mittlere Durchmesser errechnet wurde. Der Unterschied in der Kapillarenweite an den beiden Enden war meistens so gering, daß er vernachlässigt werden konnte.

Die zu den Versuchen benutzten Farbfilter von Schott waren folgende: OG 3 3 mm, rot; RG 1 2,5 mm, rot; VG 9 2,1 mm, grün; BG 7 2 mm, blaugrün und BG 12 (4) 2 mm, blauviolett. Außerdem wurde noch mit folgenden Lichtquellen gearbeitet: Philips-Lampe H. P. W. 125 Watt; Type 57 20 2 E/70 als Quelle für UV; 15 Watt Photo-Rotlichtlampe und als Quellen für weißes Licht gewöhnliche Glühbirnen von 15, 25, 60 und 150 Watt sowie diffuses Tageslicht.

Experimenteller Teil.

Versuch 1. Guttationsverlauf im roten Licht (Photolampe).

Wir erwarteten zunächst, daß rotes Licht ohne jeden Einfluß sei und daher ein günstiges Meßlicht abgeben würde. Viele Arbeiten über

Lichtwachstumsreaktionen wurden im roten Licht angestellt, da man annahm, daß es den Wachstumsverlauf der Haferkoleoptile nicht beeinflusse.

Die Körner wurden am 9. 3. 50 um 15 Uhr eingequollen. Der Versuch begann am 14. 3. vormittags um 9 Uhr. Die Keimlinge waren somit bei Versuchsbeginn 4 Tage 18 Std alt, vom Zeitpunkt des Einquellens der Körner gerechnet. Als rote Lichtquelle diente eine gewöhnliche 15-Watt-Photolampe. Der Abstand der

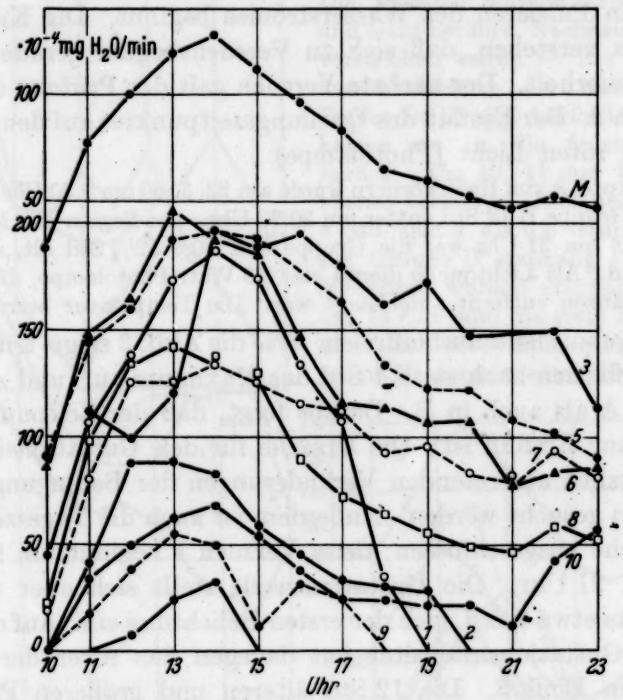


Abb. 1. Guttationsverlauf im roten Licht (Photolampe). *M* Durchschnittskurve.

Pflanzen von dieser betrug bei den Messungen etwa 30 cm. Das Licht fiel seitlich auf die Pflanzen. Die Temperatur bewegte sich zwischen 15 und 16° C.

Wie die Abb. 1 zeigt, guttieren sämtliche Keimlinge anfangs mit stark zunehmender Intensität. Nach 4—5 Std wird ein Maximum erreicht, und anschließend fallen die Kurven wieder ab. Dieser Abfall wird allmählich geringer, bis um etwa 22 Uhr ein Stand erreicht ist, unter den die Guttationsintensität nicht mehr abzusinken scheint.

Dieser Kurvenverlauf ist allen Pflanzen gemeinsam, die Höhe der Guttation allerdings sehr verschieden. Von Pflanze 4, die nur wenig guttiert und nur während einiger Stunden im Bereich des Maximums, bis zu solchen, die dauernd lebhaft Wasser ausscheiden, wie etwa die Pflanzen 3, 5 oder 6, sind alle Übergänge zu erkennen. Diese betonte Individualität ist ein charakteristisches Merkmal der Guttation des Hafers, die das Arbeiten mit dieser Pflanze sehr erschwert.

Wie kommt nun dieser Verlauf der Guttation zustande? Ist die beobachtete Guttationswelle eine Folge der plötzlichen Schwankung in den Versuchsbedingungen zu Beginn des Versuchs, oder wird der Impuls bereits vor Versuchsbeginn induziert? Das übereinstimmende Verhalten der Pflanzen läßt auf eine gemeinsame äußere Ursache schließen. Da der Zeitpunkt der Aktivierung der Enzyme im Korn für alle Individuen der gleiche ist (gemeinsame Quellung), wäre es denkbar, daß bereits im Embryo ein Pulsieren des Wasserstromes beginnt. Die Kurven wären dann so zu verstehen, daß sich zu Versuchsbeginn gerade ein solcher Impuls wiederholt. Der nächste Versuch galt der Prüfung dieser Frage.

Versuch 2. Der Einfluß des Quellungszeitpunktes auf den Guttationsverlauf im roten Licht (Photolampe).

Eine Gruppe A von Haferkörnern wurde am 22. 3. 50 um 8.30 Uhr eingequollen, eine zweite Gruppe B 12 Std später um 20.30 Uhr. Bei Beginn der Messungen am 26. 3. abends um 21 Uhr war die Gruppe A 4 Tage $12^1/_2$ Std alt, die Gruppe B 4 Tage $^1/_2$ Std. Als Lichtquelle diente eine 15-Watt-Photolampe, die etwa 30 cm von den Pflanzen entfernt aufgehängt war. Die Temperatur betrug 16° C.

Das Ergebnis ist aufschlußreich. Wie die Abb. 2 zeigt, tritt wiederum bei allen Pflanzen nach etwa 4 Std das Maximum auf, und zwar sowohl in Gruppe A als auch in B. Daraus folgt, daß der Zeitpunkt des Einquellens ohne Einfluß ist. Die Ursache für den Guttationsimpuls muß in den plötzlich auftretenden Veränderungen der Bedingungen zu Versuchsbeginn gesucht werden. Außerdem ist auch die Tageszeit als mögliche Ursache ausgeschlossen; denn Versuch 1 beginnt um 9 Uhr, Versuch 2 um 21 Uhr. Die Guttationswelle stellt sich aber unabhängig hiervon stets etwa 4 Std nach der ersten Belichtung ein. Auf die absolute Höhe der Guttationsintensität hat dagegen das Alter der Keimlinge bedeutenden Einfluß. Die 12 Std älteren und größeren Pflanzen der Gruppe A guttieren, von einer Ausnahme abgesehen, erheblich stärker als die jüngeren und kleineren der Gruppe B. Der Unterschied in der Länge der Keimlinge beträgt bis zu 1 cm.

Wir sehen weiter, daß auf das Maximum bei fast allen Pflanzen ein Minimum folgt. Hinter der ersten starken Guttationswelle scheint eine zweite schwächere zu liegen.

Da diese Wellen ganz offensichtlich durch die Manipulationen bei Versuchsbeginn erzeugt werden, mußte es unsere Aufgabe sein, in dieser Richtung weiter zu suchen. Wie bereits erwähnt, standen die Pflanzen bis zum Versuchsbeginn im dampfgesättigten Raum und in völliger Dunkelheit. Dann wurden sie plötzlich vorübergehend belichtet und in weniger feuchte Luft gebracht. Außerdem wurden sie beim Abtrocknen berührt. Es galt jetzt also den Einfluß dieser 3 Faktoren, nämlich Licht, Berührung und Feuchtigkeit, zu untersuchen.

Versuch 3. Luftfeuchtigkeitsschwankungen und Guttationsverlauf im roten Licht (Schott-Filter EOG 3).

Es wurden 2 Gruppen zu je 10 Pflanzen gebildet. Der Versuch begann für beide am 1. 10. 50 morgens um 9 Uhr. Die Pflanzen waren zu diesem Zeitpunkt 5 Tage und 20 Std alt. Die Gruppe A wurde wie üblich untersucht, d. h. um 9 Uhr wurden Verdunkelung und feuchte Kammer entfernt und die Keimlinge abgetrocknet, um 10 Uhr erfolgte die erste Messung, um 11 Uhr die zweite usw. Bei der Gruppe B wurden Dunkelsturz und feuchte Kammer ebenfalls erstmalig um 9 Uhr abgehoben, jedoch im Dunkeln. Die Pflanzen wurden nicht abgetupft und nicht berührt. Nachdem etwa 30 sec verstrichen waren — das war die für das Abtrocknen der Keimlinge eines Topfes der Gruppe A erforderliche Zeit — kamen sie in die feuchte Kammer zurück. Um 10, 11 und 12 Uhr wurde ebenso verfahren. Erst um 13 Uhr, also 4 Std später als die Gruppe A, erhielt die Gruppe B erstmalig Licht und die Keimlinge wurden erstmalig abgetupft, um 14 Uhr fand die erste Messung statt usw. Hat die vorübergehende und bei jeder Messung wiederkehrende Herab-

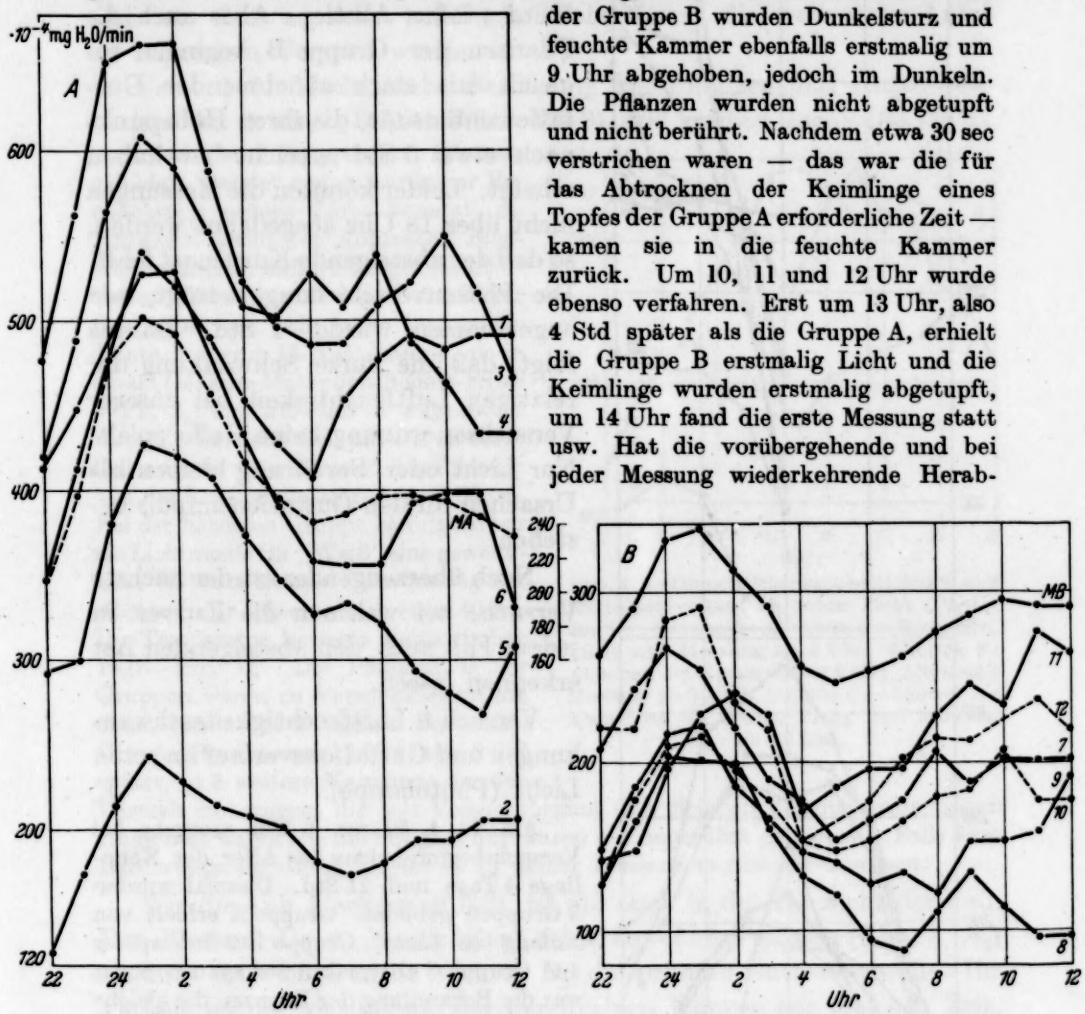


Abb. 2. Quellungszeit und Guttationsverlauf im roten Licht (Photolampe). Gruppe A: Quellung um 8.30 Uhr; Gruppe B: 20.30 Uhr. *MA* Durchschnitt der A-Kurven; *MB* Durchschnitt der B-Kurven.

setzung der relativen Feuchtigkeit einen Einfluß auf den Guttationsverlauf, so mußte erwartet werden, daß die B-Pflanzen mit Beginn der Messungen den gleichen Guttationsrhythmus zu diesem Zeitpunkt besitzen wie die A-Pflanzen. Besteht kein solcher Einfluß, so sind Licht oder Berührung die gesuchten Faktoren. Es muß dann eine Phasenverschiebung der Guttationswellen beider Gruppen auftreten, und zwar um 4 Std. Als Lichtquelle diente eine 15-Watt-Lampe, die sich in einem Gehäuse mit einem Fenster aus rotem Filterglas (Schott EOG 3; 3 mm) befand. Die Temperatur betrug 17° C, der Abstand der Lampe etwa 30 cm.

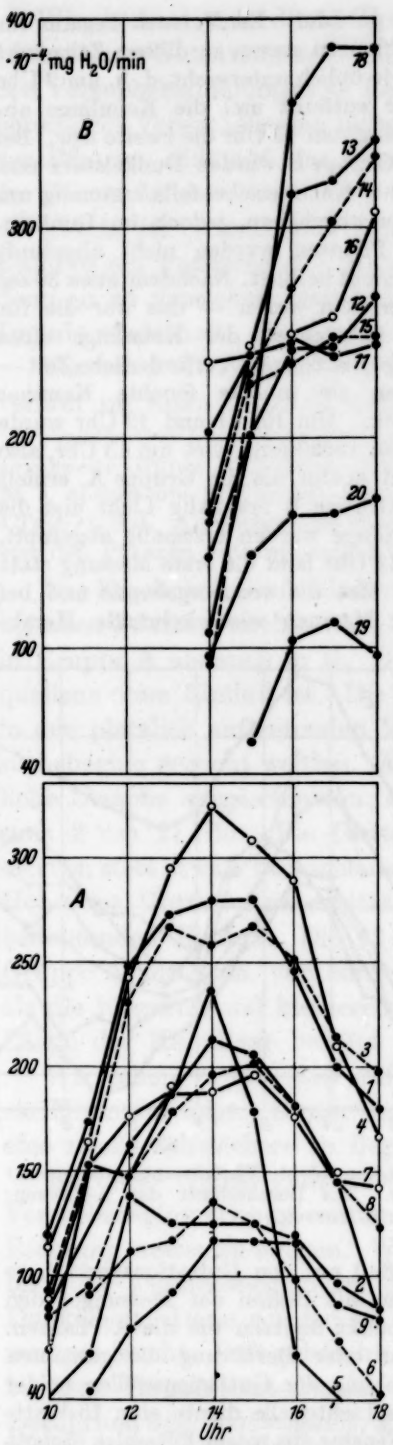


Abb. 3. Luftfeuchtigkeitsschwankungen und Guttationsverlauf im roten Licht (Schott-Filter EOG 3). Gruppe A: Abheben der Kammern, Licht und Messung ab 9 Uhr. Gruppe B: Abhebender Kammern ab 9 Uhr, Licht und Messung ab 13 Uhr.

Alle 10 Pflanzen der Gruppe A stimmen im Verlauf der Guttation überein (Abb. 3): zunächst mehr oder weniger starker Anstieg und nach etwa 5 Std wieder Abstieg. Aber auch die Pflanzen der Gruppe B beginnen sogleich mit stark zunehmender Guttationsintensität, die ihren Höhepunkt nach etwa 5 Std erreicht zu haben scheint. Leider konnten die Messungen nicht über 18 Uhr ausgedehnt werden, so daß der absteigende Kurvenast fehlt. Die Phasenverschiebung beträgt, wie angenommen wurde, 4 Std. Daraus folgt, daß die kurze Schwankung der relativen Luftfeuchtigkeit bei unserer Versuchsanordnung keine Rolle spielt. Nur Licht oder Berührung bleiben als Ursachen für den Guttationsimpuls bestehen.

Noch überzeugender ist der nächste Versuch, bei welchem die Kurven in jedem Fall auch den absteigenden Ast erkennen lassen.

Versuch 4. Luftfeuchtigkeitsschwankungen und Guttationsverlauf im roten Licht (Photolampe).

Am 14. 4. 50 um 6 Uhr morgens bei Versuchsbegim betrug das Alter der Keimlinge 4 Tage und 21 Std. Diesmal wurden 3 Gruppen gebildet. Gruppe A erhielt von Anfang an Licht, Gruppe B 3 Std später und Gruppe C abermals 3 Std später. Sonst war die Behandlung der Pflanzen die gleiche wie im vorigen Versuch. Als Lichtquelle diente eine rote 15-Watt-Photolampe. Die Temperatur betrug 15—16° C.

Abb. 4 zeigt klar, daß in der Tat die Guttationsstöße der 3 Gruppen um je etwa 3 Std verschoben sind. Die Lage der Maxima ist jeweils abhängig vom Zeitpunkt des Versuchs-

beginns, und unter den Faktoren, die bei Ingangsetzen des Versuchs zwangsläufig variieren und daher den Anstoß zu dem Rhythmus geben könnten, kommt die Schwankung des Sättigungsdefizits der Luft nicht in Frage. Daß auch die mechanische Berührung ausscheidet, ergab sich aus einer zunächst zufälligen Beobachtung, die sodann der Anlaß zu folgendem Versuch wurde.

Versuch 5. Mechanische Berührung der Pflanzen und Guttationsverlauf im grünen (Schott-Filter VG 9) und weißen Licht (60 Watt).

Es wurden 2 Gruppen von Pflanzen gebildet. Bei der ersten wurde zur Beobachtung grünes Licht benutzt, da HEIMANN (1950) für *Kalanchoë Bloßfeldina* angibt, daß dunkelgrünes Licht keinen Einfluß auf den Verlauf der Guttation hat. Als grüne Lichtquelle diente uns eine 15-Watt-Lampe, die in einem Gehäuse hinter dem Schott-Filter VG 9, 2,1 mm als Fenster angebracht war. Es handelte sich um ein ziemlich helles Grün. Der Abstand der Pflanzen von der Lichtquelle betrug etwa 50 cm. Bei der nächsten Gruppe benutzten wir als Lichtquelle für „Weiß" eine gewöhnliche 60-Watt-Lampe. Hier betrug der Abstand der Pflanzen nur etwa 40 cm. Die Temperatur bewegte sich zwischen 19,0—19,5° C. Die Pflanzen beider Gruppen waren zu Versuchsbeginn am 6. 8. 50 um 8 Uhr 4 Tage alt. Bei beiden Gruppen wurden um 13 Uhr, also 5 Std später, je 3 weitere Keimlinge in den Versuch einbezogen, die seit Versuchsbeginn den gleichen Versuchsbedingungen ausgesetzt waren wie die übrigen, nur waren sie unberührt geblieben. Falls kein Berührungsreiz vorlag, durfte es zu keiner Phasenverschiebung kommen.

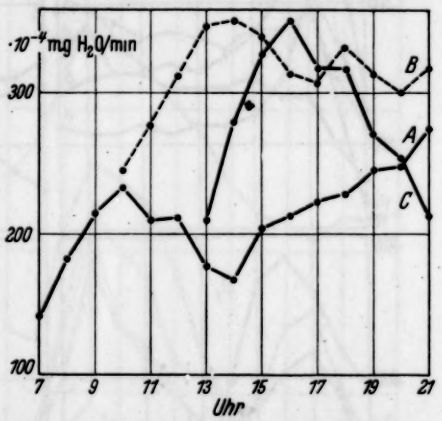


Abb. 4. Luftfeuchtigkeitsschwankungen und Guttationsverlauf im roten Licht (Photolampe). Gruppe A: Abheben der Kammern, Licht und Messung ab 6 Uhr. Gruppe B: Abheben der Kammern ab 6 Uhr, Licht und Messung ab 9 Uhr. Gruppe C: Abheben der Kammern ab 6 Uhr, Licht und Messung ab 12 Uhr.

Wie die Abb. 5 erkennen läßt, ist das auch in der Tat nicht der Fall. Den Kurven der 3 „Nachzügler" fehlt sowohl im grünen (Abb. 5, A_2) als auch im weißen Licht (Abb. 5, B_2) die primäre Guttationswelle. Ihr Verlauf ist der gleiche wie der der übrigen Kurven zur gleichen Zeit. Besonders schön kommt das zum Ausdruck bei den mit weißem Licht behandelten 3 „Nachzüglern", deren Durchschnittskurve (MB_2) mit jener der zugehörigen 5 Pflanzen (MB_1) praktisch zusammenfällt. Beide besitzen die gleiche Phase. Damit ist der Beweis erbracht, daß als Ursache für die Guttationsschwankung von den 3 erwähnten Möglichkeiten nur noch das Licht übrig bleibt.

Das Versuchsergebnis ist noch in anderer Hinsicht aufschlußreich. Es zeigt, daß grünes Licht auf den Verlauf der Guttation ebenso einwirkt wie weißes und rotes. Unsere Hoffnung, daß es vielleicht ein geeignetes Meßlicht sein würde, erfüllte sich damit nicht.

Zwischen der Wirkung des grünen und des weißen Lichtes scheinen allerdings gewisse Unterschiede zu bestehen. Nach dem Maximum fällt die Guttationsintensität im weißen Licht wesentlich stärker ab als im Grün. Ob hierfür die stärkere Intensität des benutzten weißen Lichtes,

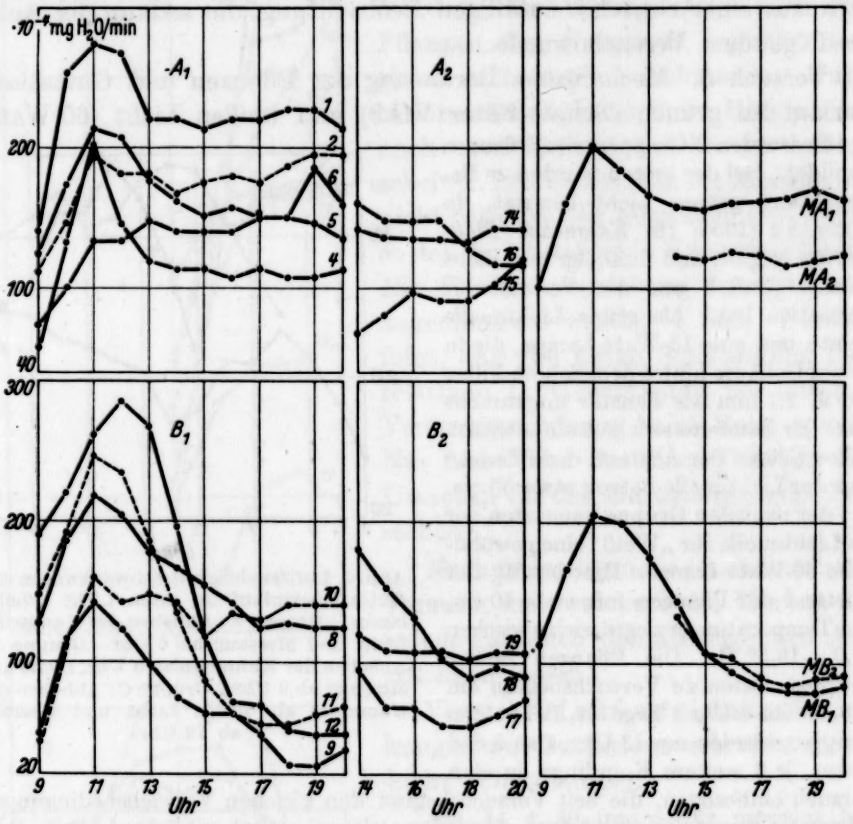


Abb. 5. Mechanische Berührung der Pflanzen und Guttationsverlauf im grünen (Schott-Filter VG 9) und weißen Licht (60-Watt-Glühbirne). A_1 Abheben der Kammern, grünes Licht und Messung ab 8 Uhr; A_2 Abheben der Kammern und grünes Licht ab 8 Uhr, Messung ab 13 Uhr; B_1 Abheben der Kammern, weißes Licht und Messung ab 8 Uhr; B_2 Abheben der Kammern und weißes Licht ab 8 Uhr, Messung ab 13 Uhr; MA_1, MA_2, MB_1 und MB_2 Durchschnitt der zugehörigen Einzelkurven.

oder dessen andere qualitative Zusammensetzung verantwortlich zu machen ist, muß einstweilen dahingestellt bleiben.

Da ohne Zweifel das Licht die Guttationswelle hervorruft, galt es, dessen Wirkung weiter zu ergründen. Wir prüften insbesondere das Verhalten der Pflanzen im Dauerlicht nach Dauerdunkelheit.

Versuch 6. Verlauf der Guttation im roten Dauerlicht (Schott-Filter RG 1) 15 Watt.

Es wurden wieder 2 Keimlingsgruppen gebildet. Die erste blieb während des ganzen Versuches im Licht, die zweite erhielt Licht wie bisher nur während der Abnahme der Guttationstropfen. Sonst waren die Bedingungen für beide gleich. Bei Versuchsbeginn am 24. 4. 50 morgens um 6 Uhr waren die Pflanzen

4 Tage und 21 Std alt. Sie standen im Abstand von etwa 50 cm unter einer 15-Watt-Lampe, deren Licht durch das rote Schott-Filter RG 1, 2,5 mm fiel. Der Einfallswinkel des Lichtes betrug etwa 75°, die Temperatur etwa 17° C.

Die Kurven der Abb. 6 lassen erkennen, daß zwischen Dauerlicht (*B*) und Licht nur während der Messung (*A*) allem Anschein nach kein

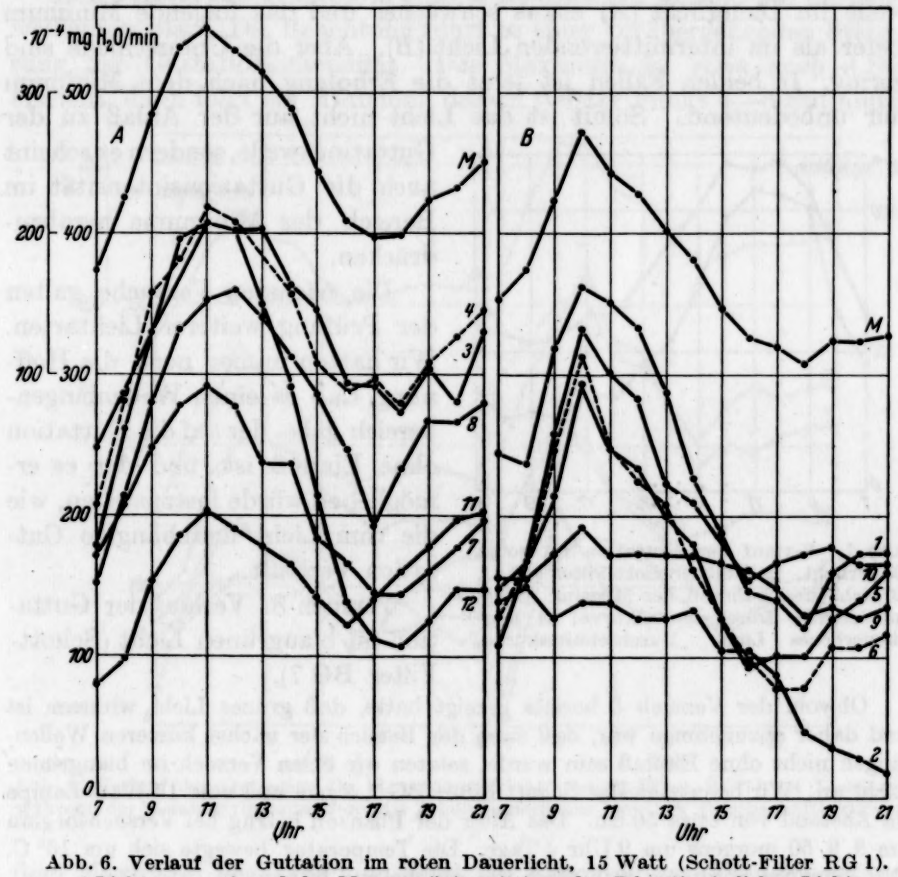


Abb. 6. Verlauf der Guttation im roten Dauerlicht, 15 Watt (Schott-Filter RG 1). *A* Licht nur während der Messung (intermittierend); *B* kontinuierliches Licht; *M* Durchschnittskurven.

prinzipieller Unterschied besteht; in beiden Fällen reagieren die Keimlinge auf das Licht mit einem Guttationsstoß. Dieser ist bei Dauerlicht allerdings schwächer, das Maximum erreicht nicht die Höhe und Breite, auch setzt das nachfolgende Minimum früher ein als bei Licht nur während der Messung. Ferner fällt im Dauerlicht das Minimum tiefer ab und die anschließende Erholung beginnt zögernder.

Der Versuch wurde mit einer stärkeren Lichtquelle wiederholt.

Versuch 7. Verlauf der Guttation im roten Dauerlicht (Schott-Filter RG 1) 25 Watt.

Die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie vorher, nur wurde an Stelle der 15- eine 25-Watt-Lampe benutzt. Auch das Alter der Keimlinge war bei

Versuchsbeginn am 25. 4. 50 morgens um 6 Uhr das gleiche wie im vorhergehenden Versuch. Die Temperatur betrug etwa 17° C.

Auch unter der Wirkung der stärkeren Lichtintensität besteht, wie Abb. 7 zeigt, zwischen Dauerlicht und Licht nur während der Messung kein Unterschied von größerer Bedeutung. Wieder ist die Guttationswelle im Dauerlicht (*A*) etwas schwächer und das folgende Minimum tiefer als im intermittierenden Licht (*B*). Aber die Unterschiede sind gering. In beiden Fällen ist jetzt die Erholung nach dem Minimum nur unbedeutend. Somit ist das Licht nicht nur der Anlaß zu der Guttationswelle, sondern es scheint auch die Guttationsintensität im Bereich des Minimums herabzudrücken.

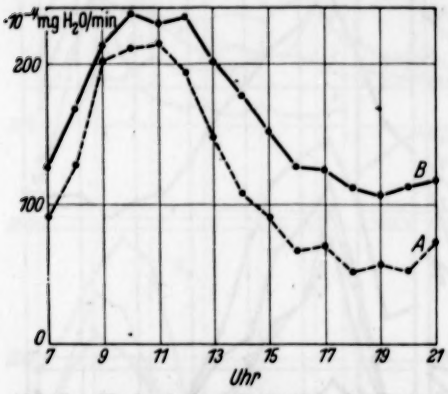


Abb. 7. Verlauf der Guttation im roten Dauerlicht, 25 Watt (Schott-Filter RG 1). *B* Licht nur während der Messung (intermittierend), Durchschnittskurve; *A* kontinuierliches Licht, Durchschnittskurve.

Die nächsten Versuche galten der Prüfung weiterer Lichtarten. Wir hatten immer noch die Hoffnung, daß es einen Wellenlängenbereich gäbe, der auf die Guttation ohne Einfluß ist, und der es ermöglichen würde festzustellen, wie die vom Licht unabhängige Guttation verläuft.

Versuch 8. Verlauf der Guttation im blaugrünen Licht (Schott-Filter BG 7).

Obwohl der Versuch 5 bereits gezeigt hatte, daß grünes Licht wirksam ist und daher anzunehmen war, daß auch der Bereich der nächst kürzeren Wellenlängen nicht ohne Einfluß sein würde, setzten wir einen Versuch im blaugrünen Licht an. Wir benutzten das Schott-Filter BG 7, 2 mm und eine 15-Watt-Lampe im Abstand von etwa 50 cm. Das Alter der Pflanzen betrug bei Versuchsbeginn am 8. 9. 50 morgens um 9 Uhr 4 Tage. Die Temperatur bewegte sich um 16° C. Die Versuchsanordnung war sonst die gleiche wie bisher.

Wie der Abb. 8 zu entnehmen ist, führt das blaugrüne Licht in der Tat zu der gleichen Guttationswelle wie rot oder grün. Auch zwischen Dauerlicht (*B*) und Licht nur während der Messung (*A*) besteht kein wesentlicher Unterschied. Im Dauerlicht tritt das Maximum etwas früher ein, und das folgende Minimum sinkt tiefer ab (relativ zum Maximum) als im intermittierenden Licht, wieder ein Hinweis, daß größere Lichtmengen die Guttationstätigkeit im Bereich des Minimums vermutlich herabsetzen.

Der nächste Versuch galt der Prüfung von noch kurzwelligerem Licht.

Versuch 9. Verlauf der Guttation im blauvioletten Licht [Schott-Filter BG 12 (4)].

Zu diesem Zweck wurde das Schott-Filter BG 12 (4), 2 mm verwendet, welches blauviolettes Licht hindurchläßt. Als Lampe diente eine 15-Watt-Glühbirne. Die

Entfernung bis zu den Pflanzen betrug etwa 50 cm. Da die Lichtintensität hinter dem Filter so gering war, daß die Guttationstropfen kaum zu erkennen waren, mußten die Keimlinge zur Abnahme der Tropfen bis auf etwa 20 cm der Lampe genähert werden. Zu Beginn des Versuchs am 5. 9. 50 morgens um 7 Uhr waren die Pflanzen 3 Tage 22 Std alt. Die Temperatur betrug 17,0—17,5° C.

Der Verlauf der Kurven in Abb. 9 ist etwa der gleiche wie im langwelligeren Blau. Die Belichtung führt zu einer vorübergehenden Steigerung der Guttationsintensität. Das Maximum ist etwa nach 4 Std erreicht, dann folgt ein Minimum, dessen tiefster Punkt 4—6 Std hinter

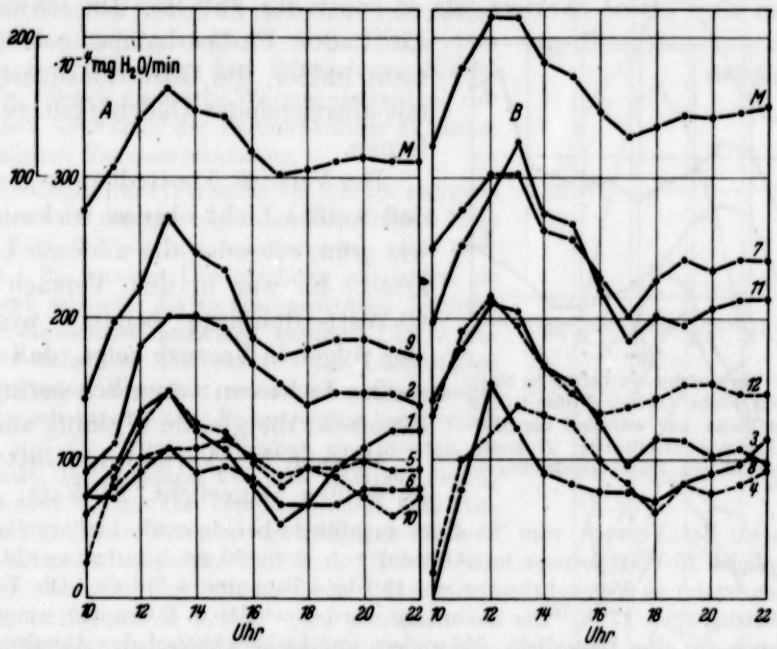


Abb. 8. Verlauf der Guttation im blaugrünen Licht (Schott-Filter BG 7). *A* Licht nur während der Messung (intermittierend); *B* kontinuierliches Licht; *M* Durchschnittskurven.

dem Maximum liegt. Sodann setzt die Erholung ein. Bemerkenswert ist, daß diesmal zwischen Dauerlicht und intermittierendem Licht überhaupt keine Unterschiede zu bestehen scheinen.

Die Einzelkurven (in Abb. 9 fortgelassen) wiesen teilweise erhebliche Zacken auf, die auf das schlechte Beobachtungslicht zurückzuführen waren. Dadurch entstanden Meßfehler, weil es nicht immer gelang, die Guttationsflüssigkeit quantitativ in die Kapillaren zu bekommen.

Wie der nächste Versuch zeigen wird, hat auch das UV-Licht die gleiche Wirkung wie alle bisher geprüften Lichtarten.

Versuch 10. Verlauf der Guttation im intermittierenden UV-Licht.

Die in diesem Versuch benutzte Lichtquelle war eine Philips-Philora-Lampe, H. P. W. 125 Watt, Typ 57 20 2 E/70. Diese Lampe strahlt bedeutende Mengen kurzwelliges UV-Licht aus, gibt aber auch im Sichtbaren gerade noch so viel Licht ab, daß die Guttationstropfen gesehen und entfernt werden können. Die

Pflanzen wurden diesmal nur während der Messung belichtet. Der Abstand von der Lichtquelle betrug während der Abnahme der Guttationsflüssigkeit wegen der schlechten Sicht nur 20—25 cm. Als Boden diente diesmal nicht Elbsand, sondern Gartenerde. Die Pflanzen waren zu Versuchsbeginn am 25. 9. 50 morgens um 8 Uhr 4 Tage und $23^1/_2$ Std alt.

Die Pflanzen guttieren sehr lebhaft, der Verlauf der Flüssigkeitsausscheidung ist aber der gleiche wie bisher (Abb. 10). Das Maximum ist nach etwa 4 Std erreicht, der anschließende Abfall ist ziemlich tief, ohne daß eine Erholung bis Versuchsschluß eingetreten wäre. Die Einzelkurven sind etwas zackiger als es sonst der Fall ist. Im schwachen Licht der Philips-Lampe gelang es nicht immer, die Guttationsflüssigkeit mit ausreichender Genauigkeit zu entfernen.

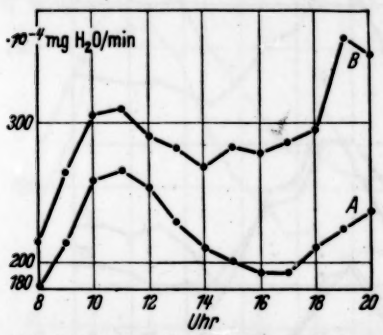


Abb. 9. Verlauf der Guttation im blauvioletten Licht [Schott-Filter BG 12 (4)]. *A* Licht nur während der Messung, Durchschnittskurve; *B* kontinuierliches Licht, Durchschnittskurve.

Der Versuch 5 hatte bereits gezeigt, daß weißes Licht ebenso wirksam ist wie grün, rot oder die anderen Lichtarten. Es war in dem Versuch eine 60-Watt-Glühbirne benutzt worden. Der folgende Versuch zeigt, daß auch weißes Licht von wesentlich geringerer Intensität die gleiche Wirkung ausübt.

Versuch 11. Verlauf der Guttation im weißen Dauerlicht, 25 Watt.

Es sei der Versuch vom 26. 4. 50 angeführt, bei dem als Lichtquelle eine gewöhnliche 25-Watt-Lampe im Abstand von etwa 50 cm benutzt wurde. Die Pflanzen waren zu Versuchsbeginn um 13 Uhr 4 Tage und 4 Std alt. Die Temperatur betrug etwa 17° C. Die Keimlinge wurden wieder in 2 Gruppen eingeteilt, von denen die eine Dauerlicht, die andere nur Licht während der Abnahme der Guttationstropfen erhielt.

Wie aus der Abb. 11 hervorgeht, führt auch das schwächere weiße Licht zu der Guttationswelle. Aber der Impuls ist verhältnismäßig schwach und erreicht schon nach 2—3 Std sein Maximum. Da aber die Keimlinge zu Versuchsbeginn noch ziemlich klein waren, wäre es denkbar, daß sehr junge Pflanzen nicht so stark auf das Licht reagieren wie ältere Keimlinge.

Zwischen Dauerlicht (*B*) und Licht nur während der Messung (*A*) bestehen wiederum nur geringe Unterschiede. Im intermittierenden Licht scheint die Erholung nach dem Minimum leichter vor sich zu gehen als im ununterbrochenen Licht. Bemerkenswert in beiden Fällen ist das tief herabreichende Minimum. Bei keinem der bisherigen Versuche war die Abschwächung der Guttationsintensität im Minimum gegenüber den Anfangswerten so stark wie im vorliegenden Fall.

Auf Grund der bisher angeführten Versuche scheint Dauerlicht die Intensität der Guttation herabzusetzen. Der nächste Versuch wird

zeigen, daß größeren Lichtmengen in der Tat eine abschwächende Wirkung zukommt.

Versuch 12. Verlauf der Guttation im weißen Licht; Dauerlicht seit der Aussaat, 2 × 150 Watt.

An sich sollte durch diesen Versuch geklärt werden, wie solche Pflanzen guttieren, die nicht wie bisher im Dunkeln, sondern im Dauerlicht herangewachsen sind.

Im ganzen waren 4 Töpfe mit je 10 Pflanzen vorhanden. Von der Aussaat am 14. bis zum Versuchsbeginn am 17. 10. 49 standen die Töpfe in den feuchten Kammern im hellen Licht zweier 150-Watt-Glühbirnen, die im Abstand von etwa 1,4 m senkrecht über den Pflanzen angebracht waren. Durch die starke Wärmeausstrahlung der Lampen kam es in der Dunkelkammer zu einem merklichen Temperaturanstieg.

Zu Beginn des Versuchs am 17. 10. morgens 9 Uhr waren die gut ergrünten Keimlinge 3 Tage und 14½ Std alt und infolgedessen noch sehr klein. Zu unserer Überraschung guttierten sie äußerst schlecht, die Guttationstropfen konnten nicht einwandfrei gemessen werden. Um 12 Uhr wurde daher der Abstand von den Lichtquellen bei 2 Töpfen vergrößert, so daß sie nur schwaches Dämmerlicht erhielten. Dieses reichte gerade noch aus, um die Tropfen erkennen und messen zu können. Der Abstand von den Lampen betrug jetzt etwa 2,5 m. Die Temperaturen in unmittelbarer Nähe dieser Pflanzen bewegten sich während des Versuches zwischen 21,2 und 22,8° C. Die beiden anderen Töpfe blieben an ihrem alten Platz im intensiven Licht. Hier pendelten die Temperaturen zwischen 22,5 und 24,2° C. Während des Versuches, der sich über 62 Std bis zum 20. 10. um 2 Uhr erstreckte, wurde jede Stunde gemessen.

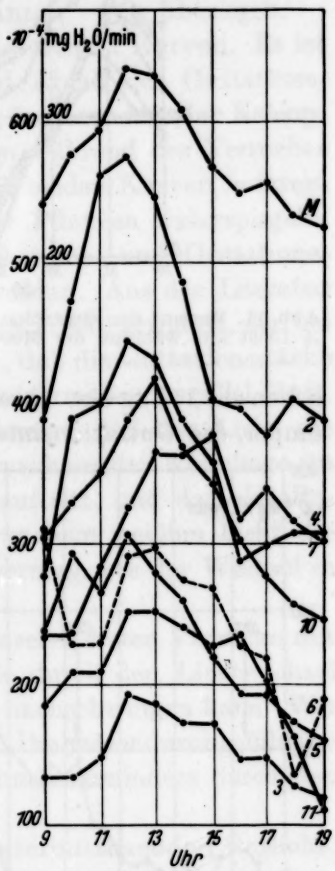


Abb. 10. Verlauf der Guttation im intermittierenden UV-Licht. *M* Durchschnittskurven.

Das Ergebnis ist recht aufschlußreich. Wie die Abb. 12 zeigt, schnellt die Guttationsintensität der in das schwache Licht gebrachten Pflanzen (*A*) sogleich stark in die Höhe. Nach 3—4 Std wird ein Maximum erreicht, wie es umgekehrt beim Wechsel von Dunkelheit → Licht so oft beobachtet wurde. Sodann fällt die Guttation zu einem schwach ausgebildeten breiten Minimum ab, dem erneut ein Maximum folgt. Dieses liegt zwar höher als das erste, ist aber bedeutend schwächer und ziemlich genau 12 Std von dem ersten entfernt. Anschließend steigt die Kurve langsam weiter an.

Die im hellen Licht verbliebenen Pflanzen (*B*) verhalten sich dagegen ganz anders. Die Keimlinge des einen der beiden Töpfe guttieren am 1. und 2. Tag überhaupt nicht oder nur äußerst schwach. Erst am

19. 10. nach Mitternacht beginnen sie merklich Wasser auszuscheiden (in Abb. 12 nicht gezeichnet). Die Pflanzen des 2. Topfes setzen zögernd

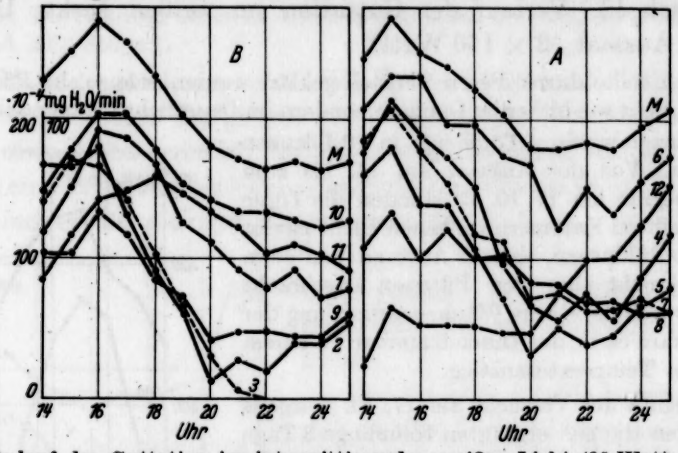


Abb. 11. Verlauf der Guttation im intermittierenden weißen Licht (25-Watt-Glühbirne). *A* Licht nur während der Messung; *B* kontinuierliches Licht; *M* Durchschnittskurven.

schon am 1. Tag ein. Ihre Guttationskurve klettert anfangs nur langsam empor, die Guttationsintensität nimmt dann aber immer stärkere Aus-

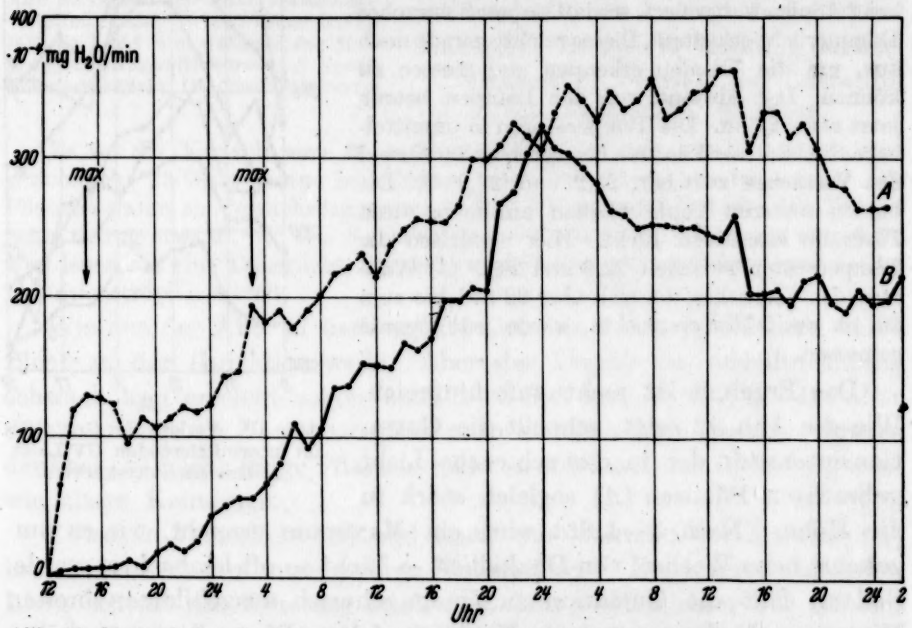


Abb. 12. Verlauf der Guttation im weißen Licht (2 150-Watt-Glühbirnen); Dauerlicht seit der Aussaat. *A* Dämmerlicht; *B* helles Licht; Durchschnittskurven.

maße an und erreicht schließlich ohne deutliche Wellen gegen Mitternacht des 2. Tages die der im Dämmerlicht stehenden Töpfe. Danach fällt die Kurve langsam wieder ab, während die im Halbdunkel stehenden Pflanzen noch viele Stunden kräftig weiter guttieren. Die hierbei auf-

tretenden Schwingungen lassen aber keinen irgendwie geregelten Rhythmus erkennen. Sie sind ein Spiel des Zufalls, hervorgerufen durch den völlig uneinheitlichen Guttationsverlauf der Einzelpflanzen. Erst am 3. Tage etwa ab 15 Uhr vermindert sich die Guttationsintensität auch der im Dämmerlicht stehenden Töpfe mehr und mehr. Die „Dämmerlichtpflanzen" sind somit nicht nur am aufsteigenden, sondern auch am absteigenden Ast der Kurven den „Lichtpflanzen" weit überlegen.

Bemerkenswert ist auch das Gesamtbild der beiden Kurven. Es ist anzunehmen, daß der langsame Anstieg und Abfall der Guttationsintensität mit der Entwicklung der Keimlinge, insbesondere der Koleoptile, zusammenhängt. Die Pflänzchen nehmen während des Versuches bedeutend an Länge zu. Es scheint, als ob die beiden Kurven in ihrem Gesamtverlauf annähernd das Wachstum der Pflanzen widerspiegeln.

Ähnliche Zusammenhänge zwischen Wachstums- und Guttationsintensität sind verschiedentlich beobachtet worden. Aus der Literatur der letzten Jahre sei hier die Arbeit von Höhn (1950) erwähnt, der bei *Zea Mays* und *Canna indica* feststellen konnte, daß die Guttationsstärke mit der pflanzlichen Wachstumsintensität einigermaßen parallel läuft.

Das Ergebnis des Versuchs hat somit gezeigt, daß das Licht die Guttationsintensität herabsetzt, daß bei Aufwachsen der Keimlinge im Dauerlicht keine nennenswerte Periodizität auftritt, und daß der Beleuchtungswechsel von intensivem nach schwachem weißem Licht die Guttation anscheinend ebenso zu aktivieren vermag, wie der Wechsel in umgekehrter Richtung.

In diesem Zusammenhang sei auf einen unserer ersten Versuche mit rotem Licht hingewiesen, der zeigte, daß die durch den Lichtwechsel bedingte Guttationswelle noch ziemlich lange nachschwingen kann. Wir hielten diese Wellen zunächst für rein endogen. Die später durchgeführten Versuche zeigten dann aber, daß diese Rhythmik zumindest durch den Beleuchtungswechsel induziert sein muß.

Versuch 13. Verlauf der Guttation im intermittierenden Rotlicht; Dauer 60 Std.

Die Keimlinge waren zu Versuchsbeginn am 4. 10. 49 morgens 8 Uhr 4 Tage und 11 Std alt. Bis dahin standen sie in völliger Dunkelheit. Bei jeder Messung erhielten sie sodann ein wenig rotes Licht, das gerade ausreichte, um die Guttationstropfen erkennen und entfernen zu können. Wie bei allen älteren Versuchen befanden sich die 10 Keimlinge in einem einzigen Topf. Hierdurch entstand insofern ein Fehler, als die Unterbrechung der Konstanz der Versuchsbedingungen während der Messung zu lange dauerte. Auch war sie bei jedem Beobachtungstermin von verschiedener Dauer. Es gelang uns nachzuweisen, daß die Zacken im Kurvenverlauf, wenn sie dicht aufeinander folgen, zum Teil dieser Fehlerquelle zuzuschreiben sind.

Die Guttationsintensität (Abb. 13) liegt anfangs auf einem ziemlichen niedrigen Niveau, sicher die Folge der Kleinheit der Pflanzen. Sie erreicht nach 5—6 Std ein Maximum, dem ein flaches Minimum folgt.

Dieser Abschnitt der Kurve entspricht der ersten durch den Lichtreiz hervorgerufenen Guttationswelle, die entsprechend der geringen Größe der Pflanzen nur wenig hervortritt.

Gegen Abend klettert sodann die Guttationsintensität steil empor und erreicht kurz nach Mitternacht etwa 12 Std nach dem 1. ihr 2. Maximum. Da die Pflanzen kräftig herangewachsen sind, ist diese 2. Welle wesentlich stärker als die erste.

Danach fällt die Guttationsintensität steil ab, aber nach 6—7 Std erholt sie sich wieder und zeigt weiter steigende Tendenz entsprechend

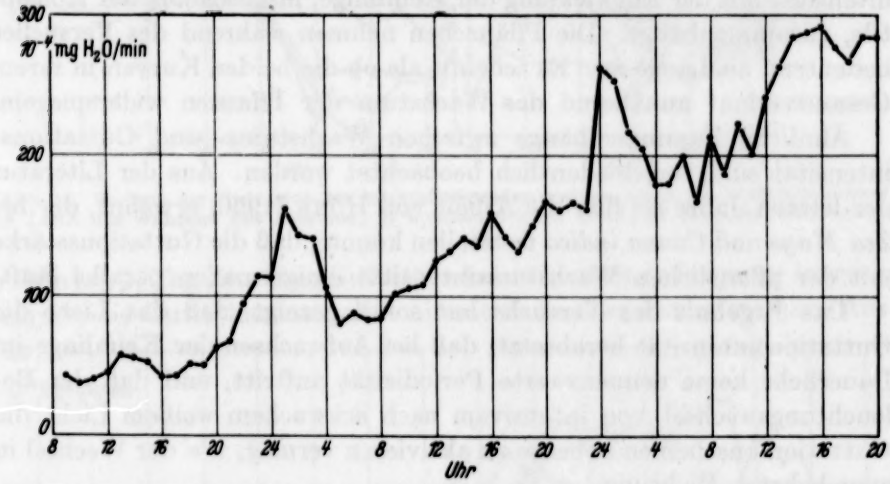


Abb. 13. Verlauf der Guttation im intermittierenden roten Licht (Photolampe), Dauer 60 Std; Durchschnittskurve.

der dauernden Größenzunahme der Pflanzen. Etwa 14 Std nach der 2. folgt die 3. jetzt wenig deutliche und weitere 8 Std später die 4. sehr ausgeprägte Welle. Abermals etwa 15 Std später erkennt man schließlich einen 5. Gipfel. Fast jedes Maximum liegt höher als das vorausgegangene, worin deutlich das Wachstum der Keimlinge zum Ausdruck kommt. Im Durchschnitt liegen die Gipfel etwa 12 Std voneinander entfernt.

Während innerhalb der ersten 24 Std der Guttationsverlauf der einzelnen Pflanzen (in Abb. 13 nicht abgebildet) noch verhältnismäßig gut übereinstimmt, ist das später nicht mehr der Fall, erkenntlich an der Zunahme der Zacken der Durchschnittskurven (z. B. am 3. Tag von 6—12 Uhr). Jede Pflanze hat schließlich ihren eigenen Rhythmus.

Ein Parallelversuch führte zu einem ähnlichen Ergebnis. Somit ist nicht daran zu zweifeln, daß die durch den ersten Beleuchtungswechsel bedingte Lichtguttationsreaktion mehrere Male nachschwingt, wenngleich mit immer größer werdender Unregelmäßigkeit bei den einzelnen Individuen.

Alle bisher geschilderten Versuche wurden mit künstlichen Lichtquellen durchgeführt. Es bleibt noch die Frage offen, wie sich die Keimlinge dem natürlichen Tageslicht gegenüber verhalten. Ein solcher Versuch sei im nächsten Abschnitt gebracht.

Versuch 14. Verlauf der Guttation im natürlichen Tageslicht.

Die Keimlinge wurden wie bisher in der Dunkelkammer im Keller des Institutes herangezogen. Sie blieben dort unter weitgehend konstanten Bedingungen (Temperatur 16° C, dampfgesättigter Raum, Dunkelsturz) bis zum Versuchsbeginn am 12. 9. 50 morgens um 8 Uhr. Die Pflanzen waren in diesem Augenblick 4 Tage und $22^1/_2$ Std alt. Jetzt wurden sie in ein Zimmer des 3. Stocks getragen, an einem nach NO weisenden Fenster aufgestellt und entdunkelt. Die feuchten Kammern blieben über den Pflanzen. Das Wetter draußen war regnerisch und der Himmel völlig bedeckt. Die Temperaturen am Fenster betrugen während des Versuchs 17,5—18,0° C.

Der Abb. 14 ist zu entnehmen, daß auch das diffuse Tageslicht wie alle bisher geprüften Lichtarten zu einer Guttationswelle führt. Aber das Ausmaß dieser übersteigt alles bisher Beobachtete. Das nach etwa 4 Std erreichte Maximum liegt im Durchschnitt fast 350% über der Anfangshöhe der Guttation. Im einzelnen sind große Unterschiede vorhanden. Von Keimlingen, die nur relativ schwach reagieren wie Nr. 6 und solchen mit mäßigem Reaktionsvermögen wie z. B. Nr. 3 und 4, bis zu solchen mit ungewöhnlich starkem Maximum wie etwa 1, 2 und 5, sind alle Übergänge vorhanden. Pflanze 5 guttiert um 12 Uhr etwa 14,5mal so stark wie um 9 Uhr, dem Zeitpunkt der ersten Messung nach Versuchsbeginn! Der Versuch liefert somit ein Beispiel dafür, wie außerordentlich verschieden das Ausmaß der Guttation der einzelnen Pflanzen sein kann, obwohl die Bedingungen für alle die gleichen sind (siehe auch Heimann 1950).

Wie die Abb. 14 weiter zeigt, fällt die Guttationsintensität nach Überschreiten des Maximums fast ebenso steil wieder ab, wie sie angestiegen ist. Das Tempo verlangsamt sich jedoch mit der Zeit mehr und mehr, ohne daß ein Stillstand oder eine Erholung beobachtet wird. Am Ende des Versuchs, um 19 Uhr, liegt die Guttation im Mittel auf fast gleicher Höhe wie am Anfang.

Warum die Keimlinge diesmal so überaus aktiv waren, kann nicht gesagt werden. Zwar waren sie etwas älter als sonst, aber das kann nicht der für ihr Verhalten einzige Grund sein.

Als wir mit unseren Versuchen begannen, interessierte uns zunächst die Frage, wie sich die Guttation im natürlichen Tag-Nachtwechsel verhält. Die Pflanzen waren in diesen ersten Versuchen 2mal täglich einem Beleuchtungswechsel unterworfen. Der am Morgen entsprach seiner Richtung nach dem künstlichen Beleuchtungswechsel von Dunkelheit → Licht unserer bereits beschriebenen, aber erst viel später durchgeführten Versuche. Man sollte erwarten, daß sich die Pflanzen in beiden Fällen übereinstimmend verhalten haben würden. Das war aber nicht

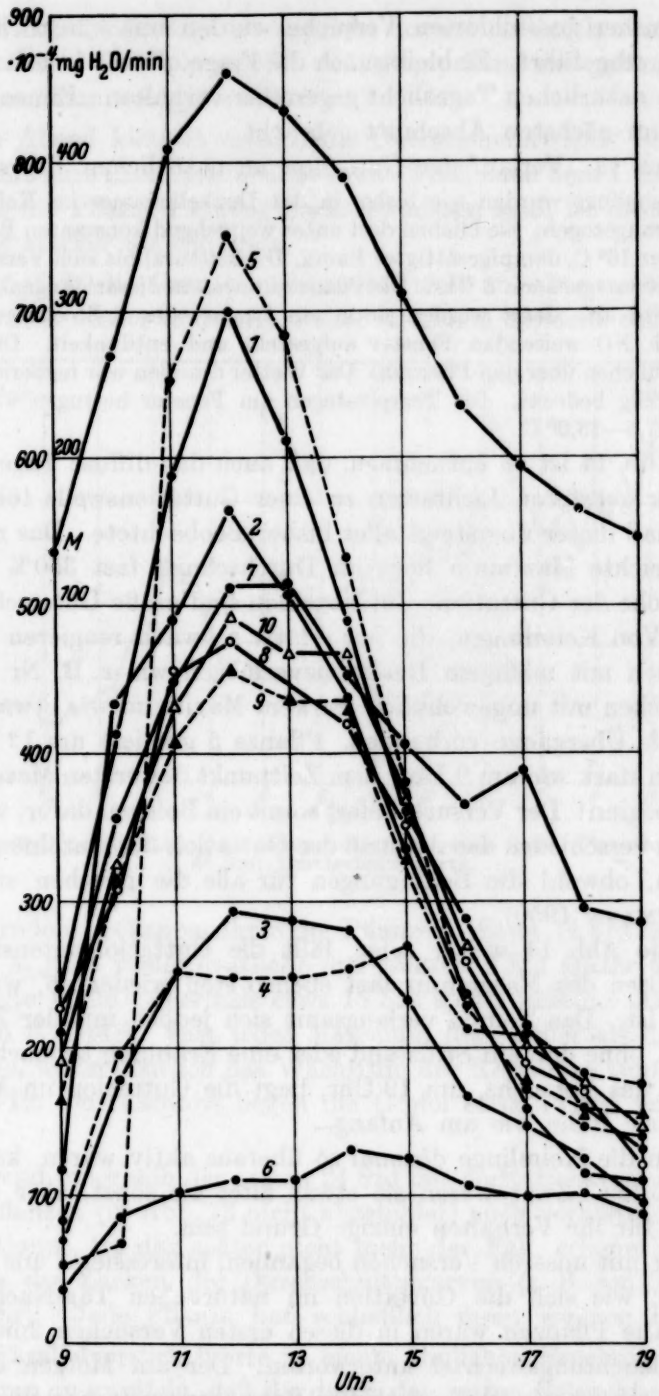


Abb. 14. Verlauf der Guttation im natürlichen Tageslicht. *M* Durchschnittskurve.

der Fall, wie die beiden folgenden Versuche zeigen, die wir aus der großen Zahl der damals durchgeführten herausgreifen.

Versuch 15. Verlauf der Guttation im natürlichen Tag-Nachtwechsel.

Die Versuchstechnik war zu der Zeit noch nicht so einwandfrei wie später. Zum Beispiel standen, wie bereits erwähnt, sämtliche 10 Pflanzen zusammen in einem Topf. Das hatte den Nachteil, daß für die Messung wesentlich mehr Zeit benötigt wurde als bei den späteren Versuchen mit nur 2 Keimlingen je Gefäß.

Die Pflanzen waren seit ihrem Auflaufen dem normalen Tag-Nachtwechsel unterworfen. Sie standen bis Versuchsanfang unbedeckt an einem NO-Fenster des Instituts. Der Versuch begann am 9. 8. 49 morgens um 8.30 Uhr (Sommerzeit). Die normal ergrünten Pflanzen waren zu diesem Zeitpunkt 5 Tage alt. Die Temperatur betrug während des Versuches etwa 26° C. Vormittags war der Himmel teilweise, über Mittag und am Nachmittag völlig bedeckt. Abgelesen wurde jede $^1/_2$ Std.

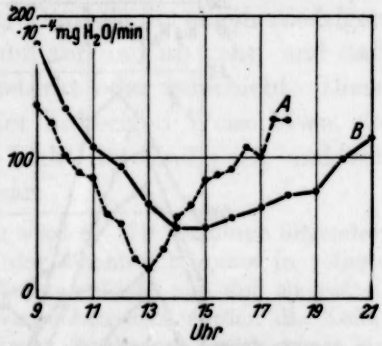


Abb. 15. Verlauf der Guttation im natürlichen Tag-Nacht-Wechsel. *A* Versuch 15, 9. 8. 49, *B* Versuch 16, 6. 9. 49, Durchschnittskurven.

Wie die Abb. 15 zu erkennen gibt, entspricht das Ergebnis nicht unserer Erwartung. Die Guttationsintensität (Kurve *A*) fällt von Beginn des Versuches sogleich ab, erreicht mittags um 13 Uhr ein Minimum und klettert sodann bis zum Ende des Versuches um 18 Uhr auf die Anfangshöhe zurück.

Daß es sich um keinen Zufall handelte, zeigt der folgende Versuch.

Versuch 16. Verlauf der Guttation im natürlichen Tag-Nachtwechsel.

Die Art der Versuchsanstellung war die gleiche wie vorher. Die Pflanzen waren zu Versuchsbeginn am 6. 9. 49 vormittags um 8 Uhr 5 Tage alt. Der Himmel war wolkenlos. Die Temperatur bewegte sich zwischen 24—26° C. Abgelesen wurde diesmal jede Stunde.

Wie die Abb. 15 zeigt, ist der Guttationsverlauf (Kurve *B*) ein ganz ähnlicher. Die Guttationsintensität fällt zunächst ab, erreicht zwischen 14 und 15 Uhr ein Minimum, das diesmal breiter ist als im Versuch 15 und steigt am Nachmittag bis zum Abbruch des Versuches um 21 Uhr langsam aber stetig wieder an.

Wiederholt man den Versuch mit denselben Pflanzen am nächsten Tag, fällt das Ergebnis nicht anders aus. Zwar ist dann die absolute Höhe der Guttationsintensität meistens eine andere, stets aber fällt sie vormittags ab, um nachmittags wieder anzusteigen. Daraus ist mit Sicherheit zu entnehmen, daß sie in der Nacht ein Maximum besitzt.

Diese Versuche im natürlichen Tag- und Nachtrhythmus, in Verbindung mit den bisher besprochenen, zeigen somit, daß der Einfluß des Beleuchtungswechsels auf die Guttation verschieden ist, je nachdem die Pflanzen aus dem Dauerdunkel kommen oder der Dunkelheit bereits eine Lichtperiode voraufgegangen ist. Im ersten Fall steigt die

Guttationsintensität zunächst an, im zweiten sinkt sie zunächst ab. Nur der erstmalige Lichtgenuß nach Dunkelheit scheint zu der Lichtguttationsreaktion zu führen. Der wiederholte Lichtgenuß scheint dagegen andersartige Reaktionen auszulösen. Wir kommen darauf noch am Schluß unserer Arbeit zurück.

Das andersartige Verhalten der Pflanzen nach einer Dunkelperiode, der eine Lichtperiode vorausgegangen ist, hatte sich auch gelegentlich bei unseren Versuchen mit künstlichen Lichtquellen gezeigt, ohne daß

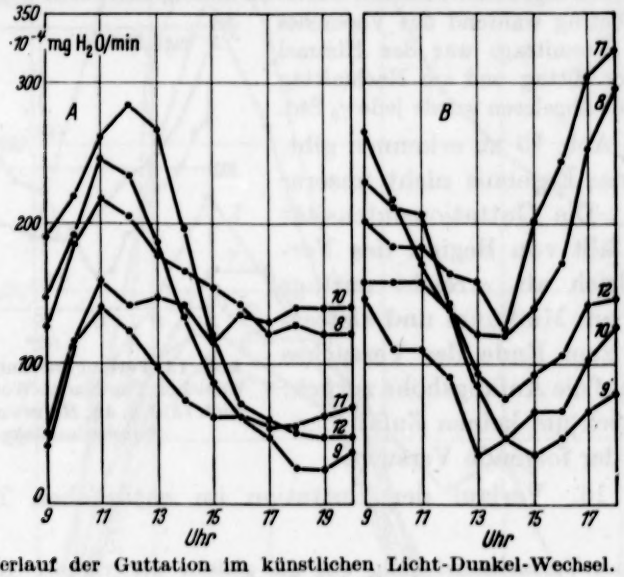


Abb. 16. Verlauf der Guttation im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel. *A* 6. 8. 50; *B* 7. 8. 50.

wir dafür zunächst eine Erklärung fanden. Ein schönes Beispiel hierfür bot der bereits besprocnene Versuch 5, der am nächsten Tag als Versuch 17 wiederholt wurde.

Versuch 17. Verlauf der Guttation im künstlichen Licht-Dunkelwechsel.

Als Meßlicht wurde eine 60-Watt-Glühbirne benutzt. Bis zum Beginn des Versuches am 6. 8. 50 vormittags um 8 Uhr standen die Keimlinge im Dauerdunkel. Am Ende des Versuches abends um 20 Uhr kamen die Pflanzen in die Dunkelheit zurück. Am nächsten Tage morgens um 8 Uhr wurden die Messungen an denselben Pflanzen erneut aufgenommen.

Das Ergebnis zeigt Abb. 16, in welcher die Guttationskurven der beiden Tage aneinandergereiht sind. Man erkennt, daß am 2. Versuchstag (Kurven *B*) alle Pflanzen anfangs einem Minimum zustreben, das um 14 Uhr erreicht wird. Am Nachmittag beginnt sodann der Wiederaufstieg. Die Kurven des 2. Versuchstages stimmen somit in ihrem Verlauf völlig mit den Kurven bei natürlichem Tag-Nachtwechsel überein.

Überblicken wir die Ergebnisse der bisher behandelten Versuche, so läßt sich mit Sicherheit sagen, daß etiolierte Haferpflanzen auf einen Lichtreiz mit einem Guttationsimpuls antworten. Sie guttieren zwar auch im Dunkeln, aber sobald Licht, gleich welcher Art, auf sie fällt, gerät die Guttation in eine wellenförmige Bewegung. Wie aber verläuft sie im Dunkeln? Alle unsere Kurven steigen unmittelbar nach der Lichteinwirkung von meist ziemlich niedrigen zu höheren Guttationswerten auf. Im Dunkeln dürfte daher kein Rhythmus vorhanden sein. Aber Endgültiges kann darüber nur das Experiment aussagen. Es wäre durchaus denkbar, daß auch im Dunkeln in einem niedrigen Bereich die Flüssigkeitsausscheidung leicht auf und ab geht, und daß das Licht diese Periodizität lediglich verstärkt oder verschiebt. Diese Frage läßt sich experimentell nicht in der bisherigen Weise lösen, da für die Abnahme der Guttationstropfen Licht notwendig ist, und wir keine Lichtart fanden, die unwirksam war.

Es mußte daher ein anderer Weg beschritten werden. Wir verfuhren folgendermaßen: Die Keimlinge wurden wie bisher in der feuchten Kammer in völliger Dunkelheit herangezogen. Die Zahl der bepflanzten Töpfe und der eingesäten Körner war bedeutend höher als sonst. Zu Versuchsbeginn wurden die Keimlinge des ersten Topfes im Dunkeln abgetrocknet. Zu diesem Zweck wurde ein Handschuh aus dünnem, aber saugfähigem Gewebe angezogen und durch äußerst vorsichtiges Abstreifen einer jeden Pflanze das Wasser entfernt. Erleichtert wurde dies durch Aussäen der Pflanzen in einer kreisförmigen Reihe, so daß kein Exemplar übergangen werden konnte. Wir überzeugten uns durch Probeversuche von der Brauchbarkeit des Verfahrens. Nach dem Abtrocknen kamen die Pflanzen in die feuchte Kammer zurück. Die Zahl der Pflanzen je Topf betrug etwa 20. Um sie abzutrocknen, waren weniger als 2 min erforderlich.

Nachdem 1 Std verflossen war, kamen die Pflanzen an das Licht. So schnell wie möglich wurde jetzt von jeder Pflanze der Guttationstropfen mit den Kapillaren abgenommen. Danach schieden sie aus dem Versuch. Sie waren für weitere Beobachtungen dieser Art nicht mehr brauchbar, da sie belichtet worden waren.

Genau 2 min vor Abnahme der Tropfen des ersten Topfes wurde der zweite Topf im Dunkeln mit dem Handschuh getrocknet, 2 min vor Messung des zweiten Topfes kam ganz entsprechend der dritte Topf an die Reihe usw. Nur auf diese Weise war es möglich, den Verlauf der Guttation im Dunkeln zu ermitteln. Der Unterschied gegenüber der früheren Methode war also der, daß zu jedem Beobachtungstermin neue, bis dahin im Dauerdunkel stehende Pflanzen genommen wurden, während es sich sonst stets um dieselben, aber zu jedem Termin belichtete oder im Dauerlicht stehende Pflanzen handelte.

Das Verfahren hatte jedoch einen Nachteil. Es fiel jetzt eine Fehlerquelle ins Gewicht, die bis dahin wenig beachtet zu werden brauchte, nämlich die überaus starke Individualität der Guttation der einzelnen Pflanzen. Man sehe sich nur die bisherigen Versuche noch einmal an. Es ist beim Hafer eine normale Erscheinung, daß die Guttationsintensität bei allen Individuen eines Topfes verschieden ist, dagegen eine Seltenheit, daß nur 2 übereinstimmen. Unterschiede in den Werten

aufeinanderfolgender Messungen nach dem neuen Verfahren sind daher äußerst kritisch zu beurteilen. Sie können ebensogut als Ausdruck der erwähnten Individualität bewertet werden. Diese Schwierigkeit läßt sich nur umgehen, wenn für jeden Beobachtungstermin eine möglichst große Zahl von Einzelpflanzen untersucht wird, so daß ein guter Durchschnitt herauskommt und der Individualitätsfaktor auf ein Minimum herabgedrückt wird. Die statistische Auswertung zeigt dann, wie die Schwankungen der Guttationskurve zu beurteilen sind.

Versuch 18. Verlauf der Guttation im Dauerdunkel.

Die Pflanzen waren zu Versuchsbeginn am 4. 10. 50 morgens 6 Uhr 4 Tage und 21 Std alt. Die Töpfe wurden in 2 Gruppen eingeteilt. Die zuerst untersuchte blieb völlig im Dunkeln, die zweite erhielt ab 18.35 Uhr weißes Dauerlicht. Als Lichtquelle diente eine 15-Watt-Lampe, die im Abstand von etwa 70 cm über den Töpfen angebracht war. Die etwa 1,5 m entfernte Deckenlampe aus Milchglas (60 Watt) der Dunkelkammer spendete zusätzlich weißes Licht. Die Temperatur lag zwischen 19 und 20° C.

Wie die Abb. 17 zeigt, bewegt sich die Dunkelkurve in ihrem ersten Abschnitt in deutlichen Zacken um eine Parallele zur Abszisse. Die beiden Ausbuchtungen könnten auf eine kurzfristige Periodizität der Guttation im Dunkeln hinweisen. Die Grenzen der Streuung[1] der Guttationswerte lassen aber erkennen, daß die Kurvenzacken nirgendwo größer sind als die Streuung. Sie können daher nur in der Streuung selbst ihre Ursache haben.

Nach Einschalten des Lichtes schnellt dagegen die Guttationsintensität in die Höhe. Sie erreicht nach etwa 6 Std ihr Maximum, um anschließend ebenso steil abzufallen, wie sie emporgeklettert ist. Dieses Maximum liegt über den Dunkelwerten. Der Unterschied ist bedeutend größer als die Streuung zu irgendeiner Zeit. Wir haben es mit einer tatsächlichen Guttationswelle zu tun, wie wir sie nach der bisherigen Methodik als Reaktion auf einen Lichtreiz immer wieder beobachten konnten. Die am auf- und absteigenden Ast der Kurve auftretenden Zacken sind dagegen wieder dem Spiel des Zufalls zuzuschreiben.

Der Versuch hat somit ergeben, daß die Guttation der völlig ohne Licht heranwachsenden Keimlinge keinen nennenswerten Schwankungen unterliegt. Um aber sicherzugehen, stellten wir einen ähnlichen Versuch mit gleicher Technik an.

Versuch 19. Verlauf der Guttation im Dauerdunkel.

Wiederum wurden die Töpfe in 2 Gruppen eingeteilt. Die erste wurde am 10. 10. morgens um 7 Uhr in den Versuch genommen. Zu diesem Zeitpunkt waren die

[1] Streuung $= \pm \sqrt{\frac{\Sigma a^2}{n}}$; es bedeutet Σa^2 Summe der Quadrate der Abweichungen vom Mittelwert; n = Anzahl der Pflanzen.

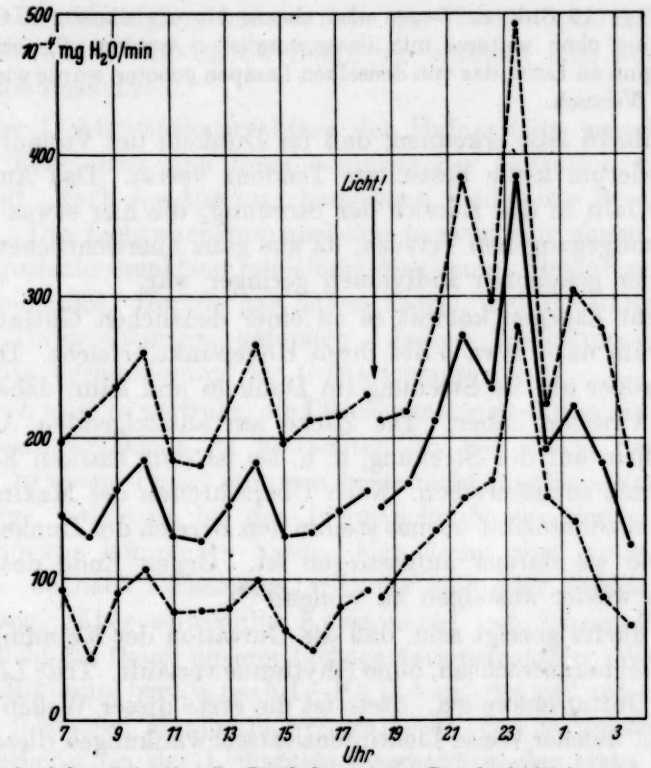


Abb. 17. Verlauf der Guttation im Dunkeln. ——— Durchschnittskurve; ····· Grenzen der Streuung.

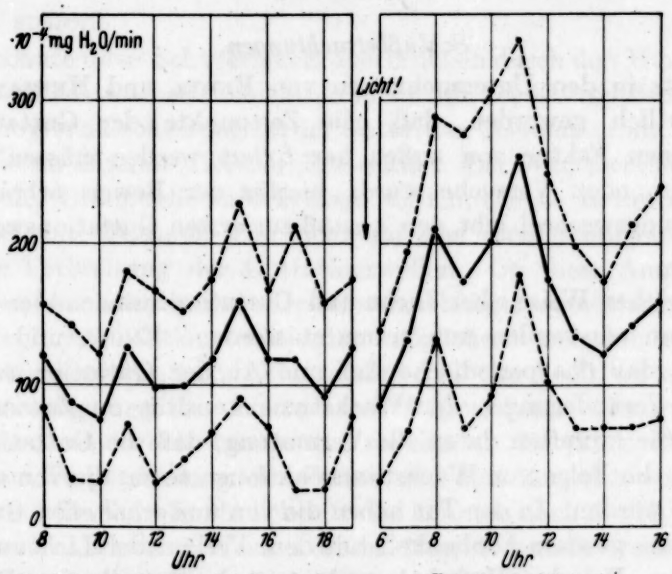


Abb. 18. Verlauf der Guttation im Dunkeln. ——— Durchschnittskurve; ····· Grenzen der Streuung

Keimlinge 4 Tage und 16 Std alt. Der Versuchsbeginn für die zweite, später bepflanzte Gruppe fiel auf den 11. 10. morgens um 5 Uhr. Das Alter dieser Keimlinge

betrug 4 Tage 15 Std, sie waren also ebenso alt wie die der 1. Gruppe und konnten daher ohne weiteres mit dieser verglichen werden. Sie erhielten von Versuchsbeginn an Licht, das von denselben Lampen geboten wurde wie im vorhergegangenen Versuch.

Die Abb. 18 läßt erkennen, daß im Dunkeln der Verlauf der Guttation wiederum keine bestimmte Tendenz verrät. Das Auf und Ab der Kurve fällt in den Bereich der Streuung, die hier etwas größer ist als im voraufgegangenen Versuch, da aus ganz unersichtlichen Gründen die Zahl der gekeimten Individuen geringer war.

Im Licht dagegen kommt es zu einer deutlichen Guttationswelle, die wiederum nach etwa 6 Std ihren Höhepunkt erreicht. Dieser Aufstieg ist größer als die Streuung im Dunkeln und kann daher nur das Licht als Ursache haben. Die Zacke am aufsteigenden Ast beruht dagegen allein auf der Streuung, d. h. sie ist dem starken Einfluß der Individualität zuzuschreiben. Nach Überschreiten des Maximums fällt die Guttationsintensität ebenso steil in den Bereich der Dunkelguttation zurück, wie sie daraus aufgestiegen ist. Gegen Ende des Versuchs scheint sie wieder ansteigen zu wollen.

Damit dürfte gezeigt sein, daß die Guttation der Keimlinge, die im Dauerdunkel heranwachsen, ohne Rhythmus verläuft. Tritt Licht hinzu, entstehen Guttationswellen. Stets ist die erste dieser Wellen sehr ausgeprägt. In welcher Weise Lichtintensitätsschwankungen diesen Rhythmus weiterhin modifizieren, darüber läßt sich einstweilen nichts aussagen.

Schlußbetrachtungen.

Bereits in den Untersuchungen von ENGEL und HEIMANN (1949) war deutlich geworden, daß „die Zeitpunkte der Guttationsstöße durch einen Faktor von außen her fixiert werden müssen". Durch die vorliegenden Versuche wurde hierfür der Beweis erbracht. Der Beleuchtungswechsel gibt den Anstoß zur ersten Guttationswelle in der Pflanze.

In welcher Weise aber Licht und Guttation miteinander verkettet sind, kann einstweilen nur vermutet werden. ENGEL und HEIMANN zeigten, „daß das periodische Auf und Ab der Guttation mit rhythmischen Veränderungen der Wachstumsintensität im Zusammenhang steht". Sie knüpften daran die Vermutung, daß die Guttationswellen vielleicht die Folge von Wachstumsreaktionen seien, die von außen her induziert werden. In der Tat haben die von uns erhaltenen Guttationskurven eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Verlauf der Lichtwachstumsreaktionen. Bei der Haferkoleoptile tritt kurz nach der Belichtung eine Abnahme der Wachstumsgeschwindigkeit ein, der eine Beschleunigung folgt, die oftmals über den Dunkelwachstumswert hinausgeht.

Nach der Beschleunigung kann wieder ein Wachstumsabfall einsetzen (s. Du Buy und Nuernbergk 1934). So entsteht eine wellenförmige Lichtwachstumskurve.

Bei der Lichtguttationsreaktion des Hafers tritt umgekehrt kurz nach der Belichtung eine Beschleunigung der Guttation ein, der ein Abfall folgt. Nach der Abschwächung kann wieder eine Beschleunigung einsetzen. Die Lichtwachstumsreaktion beginnt mit einem Minimum, die Lichtguttationsreaktion mit einem Maximum. Beide verhalten sich invers zueinander. Gerade das haben Engel und Heimann bei ihren Danziger Untersuchungen gefunden. Jedem Wachstumsimpuls entspricht eine Verminderung der Guttationsintensität.

Dennoch wäre es verfrüht, die Lichtguttationsreaktion als Folge einer Lichtwachstumsreaktion zu betrachten, so bestechend der Gedanke auch ist. In einem Punkt stimmen beide nicht überein, nämlich in der Wellenlänge. Diese ist bei den Lichtwachstumsreaktionen wesentlich kürzer und von komplexer Natur. Man kennt eine kurze und lange Reaktion. Je nach Lichtmenge tritt die eine oder andere stärker in Erscheinung. Aber selbst die Komponente mit langer Wellenlänge erreicht nicht die Dauer unserer Lichtguttationsreaktion. Während dort das erste Minimum bereits nach 1—1½ Std auftritt und zwischen diesem und dem folgenden Maximum weitere 1—1½ Std verstreichen (Sierp 1921), erscheint bei der Lichtguttationsreaktion der erste Wellenberg in etwa 3—6 Std nach der Belichtung und das anschließende Tal weitere 6—7 Std später.

Man könnte diese Schwierigkeit überbrücken durch den Hinweis, daß der Ort der Lichtwachstumsreaktion nicht mit der Koleoptilspitze, dem Ort der Tropfenausscheidung bei der Guttation, übereinstimmt. Der erste liegt mehr im unteren Teil der Koleoptile. Der Weg zwischen beiden muß von der Druckwelle zurückgelegt werden, ehe sie an der Koleoptilspitze erscheint. Dadurch tritt nicht nur eine Verzögerung ein, sondern auch eine Verbreitung der Guttationswellen. Ob diese Annahme zutrifft, kann aber nur durch weitere Untersuchungen entschieden werden.

Unsere Lichtguttationsreaktion ist möglicherweise auch eine Folge von Lichtturgorreaktionen. Fest steht, daß das Licht zu einer Permeabilitätssteigerung der Protoplasten führen kann. Derartige Wirkungen sind wiederholt beobachtet worden (s. Bünning 1939). Es kommt zur Turgorsenkung der Zellen und zum Austritt von Wasser und gelösten Stoffen. In ähnlicher Weise könnten auch die Hydathoden des Hafers zu erhöhter Wasserausscheidung veranlaßt werden.

Aber auch hier gilt das gleiche wie für die Lichtwachstumsreaktionen. Die Wellen der Turgorbewegungen sind kürzer als die von uns beobachteten Guttationswellen. Allein die Lichtturgorreaktionen der

Blattgelenke von *Phaseolus multiflorus* kommen den lichtinduzierten Guttationswellen ziemlich nahe.

Möglich ist auch, daß beim Hafer Lichtwachstums- und Turgorreaktionen zusammenhängen und daß, wie BÜNNING schon vermutet, „der Prozeß, den die Auxinforscher als lichtbedingte Änderung des Reaktionsvermögens auf Wuchsstoff bezeichnen, zum großen Teil mit der Auslösung von Erregungsprozessen identisch ist". In der Tat sieht unsere Lichtguttationsreaktion nach einer solchen, dem Alles-oder-Nichts-Gesetz unterworfenen Erregung aus. Wir sahen, daß die Lichtmenge (Dauerlicht verglichen mit intermittierendem Licht) auf den Verlauf der Guttationsreaktion keinen größeren Einfluß hat. Das ist ein kennzeichnendes Merkmal der Alles-oder-Nichts-Erregungen. Allerdings bedarf gerade diese Seite unserer Untersuchungen noch der Nachprüfung mit besserer Methodik. Sicher ist, daß der labile Zustand des Plasmas etiolierter Haferkeimlinge bereits durch geringe Lichtmengen dahingehend beeinflußt wird, daß es zu einer periodischen Wasserabscheidung kommt. Im übrigen sind zwischen Permeabilitäts- bzw. Turgorschwankungen und den Oszillationen der Lichtwachstumsreaktionen Verkettungen wiederholt vermutet worden (BURCKHARDT 1926, CHOLODNY 1933 u. a.).

Wieweit lassen sich nun die Beobachtungen HEIMANNS (1950) an *Kalanchoë Bloßfeldiana* mit unseren Ergebnissen in Einklang bringen? Auch die Guttation dieser Pflanze ist einem periodischen Auf und Ab unterworfen. Ihre Rhythmik zeigt einmal eine endogene Seite. Die Mindestlänge einer endogenen Schwingung beträgt 12 Std (s. auch HARDER 1949), sie wiederholt sich unter konstanten Außenbedingungen eine Zeitlang. Sie besitzt ferner eine stark ausgeprägte exogene Komponente, indem die Lage der Maxima und Minima nach Belieben durch den Wechsel von Licht → Dunkelheit verschoben und je nach der Länge des Licht-Dunkelturnus auch die Wellenlänge weit über den 12-Std-Rhythmus ausgedehnt werden kann. Bei so verschiedenen Objekten wie die nur wenige Tage alten etiolierten Keimlinge von *Avena* und die viele Wochen alten ausgewachsenen grünen Exemplare von *Kalanchoë*, geht man nur zögernd an einen Vergleich, zumal auch die Art der Versuchsanstellung verschieden war. Dennoch sind gewisse gemeinsame Züge in der Guttationsrhythmik beider Pflanzen nicht von der Hand zu weisen. Übereinstimmend ist, daß sich die Zeitpunkte der Maxima und Minima willkürlich ändern lassen. Auch beim Hafer ist die Lage des Maximums durch den Augenblick des Beleuchtungswechsels (Dauerdunkelheit → Licht) festgelegt und kann zu jeder Tages- und Nachtzeit herbeigeführt werden. Hier liegt offensichtlich das gleiche lichtempfindliche und die Guttationswellen auslösende Prinzip vor. Übereinstimmend ist ferner, daß sich die Guttationsstöße unter konstanten Außen-

bedingungen wiederholen, um dann schließlich auszuklingen. Im konstanten Dauerlicht (nach vorangegangener Dauerdunkelheit) kehren die durch den Wechsel ausgelösten Schwingungen auch beim Hafer einige Male wieder, um dann in unregelmäßige Bewegungen überzugehen. Da wir über diese Versuche noch kein klares Bild gewonnen haben, sind sie in vorliegender Arbeit wenig berücksichtigt worden.

Verschieden verhalten sich die beiden Pflanzen gegenüber dem grünen Licht. Es löst beim Hafer ebenso die Guttationsrhythmik aus wie rotes, blaues und weißes, während es nach HEIMANN auf die Guttation von *Kalanchoë* ohne Einfluß ist. Da wir kein Licht ausfindig machen konnten, auf welches *Avena* nicht anspricht, bei dem man hätte im „Dunkeln" beobachten können, ließ sich leider nicht mit Sicherheit feststellen, ob man die Guttationswellen wie bei *Kalanchoë* durch Veränderung der Licht-Dunkelphase willkürlich beeinflussen kann. Immerhin liegen die Wellenlängen bei *Avena* den endogen fixierten bei *Kalanchoe* ziemlich nahe. Die Zeit vom ersten Maximum nach dem Wechsel Dauerdunkel → Licht bis zum nächsten betrug durchschnittlich 12 Std. Auch scheint beim Hafer im natürlichen Tag-Nachtwechsel eine längere Schwingungsbreite möglich zu sein. In diesen Versuchen guttierten die Keimlinge über Mittag fast stets bedeutend schwächer als in den Nachtstunden, ganz wie *Kalanchoë* in den Versuchen HEIMANNS. Aus der kurzen etwa 12stündigen Welle unter konstanten Bedingungen kann auch beim Hafer eine längere bis 24stündige Welle werden, die dem natürlichen Tag-Nachtrhythmus folgt. Ganz gesichert ist dieses allerdings nicht, da wir im Dunkeln nicht ohne Licht messen konnten. Jedenfalls werden weitere Versuche klären müssen, wie weit die Übereinstimmung beider Pflanzen tatsächlich geht.

In einem Punkt möchten wir die Ausführungen HEIMANNS noch ergänzen. Er schreibt, „daß diese Periodizität sowohl durch wechselnde Außenfaktoren als auch durch eine endogene Rhythmik gesteuert wird". Der Einfluß der Außenwelt scheint nach HEIMANN ein rein regulierender zu sein. Man kann beim Hafer aber weitergehen und sagen, daß der Beleuchtungswechsel die Rhythmik, auch die endogene, überhaupt erst induziert; denn im Dauerlicht wie im Dauerdunkel finden keine Oszillationen statt. Trifft auf einen etiolierten Haferkeimling erstmals Licht — oder wird eine im Dauerlicht heranwachsende Pflanze erstmals verdunkelt — wird ein Guttationsstoß ausgelöst, dessen Länge endogen festliegt. Die Länge der dann weiter auftretenden Guttationswellen dürfte auch beim Hafer von der Art des Beleuchtungswechsels abhängen.

Im übrigen ist auch HEIMANN der Ansicht, daß die Guttationsrhythmik irgendwie mit Einflüssen des Lichtes auf die Permeabilität des Plasmas in Verbindung steht.

Zum Schluß sei nochmals auf die Arbeit von HÖHN (1950) hingewiesen. Die von HÖHN benutzten Pflanzen guttierten über längere Zeiträume ebenfalls nicht gleichmäßig, sondern mit mehr oder weniger unregelmäßigen Schwankungen. Er bestätigt somit die Beobachtungen von ENGEL (1943), „wenngleich bezüglich der von mir verwendeten Objekte treffender von unregelmäßiger Guttation als von periodischer gesprochen werden kann, denn letztere würde regelmäßige Wiederholungen derselben Phasen voraussetzen, was ich nicht feststellen konnte". Dies war unseres Erachtens auch nicht möglich, da die Versuchsbedingungen (vor allem Beleuchtungsverhältnisse) hierfür nicht ausreichten. Wie aber die Untersuchungen HEIMANNS (1950) und auch unsere eigenen inzwischen einwandfrei gezeigt haben, besteht eine deutliche, durch den Licht-Dunkelwechsel gesteuerte Periodizität der Guttation.

Zusammenfassung.

1. Etiolierte Haferkeimlinge reagieren auf eine Belichtung mit einer Guttationswelle, deren Maximum etwa 3—6 Std nach der Belichtung erreicht wird.

2. Die Lage des Maximums kann je nach dem Zeitpunkt der Belichtung beliebig verschoben werden.

3. Diese Welle kann durch rotes, grünes, blaues, blauviolettes, weißes und Tageslicht induziert werden, ohne daß nennenswerte Unterschiede in der Wirkung der einzelnen Lichtarten zu erkennen sind.

4. Auch die Lichtmenge scheint innerhalb der von uns benutzten Grenzen ohne größeren Einfluß zu sein, denn die gleiche Guttationswelle tritt sowohl bei intermittierendem (Licht während der Beobachtung) als auch bei kontinuierlichem Licht auf.

5. Im Dauerdunkel fehlt der Rhythmus.

6. Im weißen Dauerlicht (Keimlinge ganz im weißen Licht herangezogen) tritt kein Rhythmus auf.

7. Es ließ sich zeigen, daß weder Berührungsreiz noch die mit jeder Beobachtung verbundene vorübergehende Herabsetzung der Dampfspannung als Ursachen für das Auftreten der Guttationswellen in Frage kommen.

Literatur.

BÜNNING, E.: Die Physiologie des Wachstums und der Bewegungen. Berlin, Springer 1939. — BURCKHARDT, H.: Untersuchungen über die Gültigkeit des Reizmengengesetzes für die Lichtkrümmung der *Avena*-Koleoptile. Z. Bot. **18**, 273 (1926). — DU BUY, H. G., u. E. NUERNBERGK: Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. 2. Teil, Erg. Biol. **10**, 207 (1934). — CHOLODNY, N.: Beiträge zur Kritik der BLAAUWSCHschen Theorie des Phototropismus. Planta (Berl.) **20**,

549 (1933). — Engel, H., u. M. Heimann: Weitere Untersuchungen über periodische Guttation. Planta (Berl.) **37**, 437 (1949). — Harder, R.: Über die endogene Tagesrhythmik der Fermentaktivität, Guttation und Blütenbewegung bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* und *Phaseolus multiflorus*. Nachr. Akad. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl., Biol.-Physiol.-Chem. Abt. **1949**. — Heimann, M.: Einfluß periodischer Beleuchtung auf die Guttationsrhythmik. Planta (Berl.) **38**, 157 (1950). — Höhn, K.: Untersuchungen über Hydathoden und deren Funktion. Akademie der Wissenschaften und der Literatur in Mainz, Jahrg. 1950, Nr 2, S. 11. — Sierp, H.: Untersuchungen über die durch Licht und Dunkelheit hervorgerufenen Wachstumsreaktionen. Z. Bot. **13**, 113 (1921).

Der Hochschulabteilung der Schulbehörde Hamburg danken wir für die Bereitstellung der Mittel zu diesen Untersuchungen.

Prof. Dr. H. Engel und Dr. I. Friederichsen, (24a) Hamburg 36, Jungiusstr. 6, Institut für allgemeine Botanik.

Planta, Bd. 39, S. 338—345 (1951).

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON WUCHS- UND HEMMSTOFFEN AUF DIE ENTWICKLUNG DER HYPOKOTYLKNOSPEN VON *LINUM USITATISSIMUM* UND DIE KOTYLEDONARKNOSPEN VON *VICIA FABA*.

Von

KARL HÖHN.

(Eingegangen am 29. Januar 1951.)

I. Einleitung.

Kotyledonarknospen von *Phaseolus*, *Vicia Faba* und anderen Keimpflanzen werden in frühen Entwicklungsstadien korrelativ am Austreiben verhindert durch Wirkungen, die von der Sproßspitze und den Kotyledonen ausgehen. THIMANN und SKOOG (1933) sowie MÜLLER (1935) führen diese Wachstumshemmung auf den Einfluß basipetal wandernden pflanzlichen Wuchsstoffes zurück. Die Entwicklungshemmung von Kotylaren macht sich bereits bei Wuchsstoffkonzentrationen bemerkbar, die das Sproßwachstum nicht behindern. PLCH (1936) fand, daß die Auslösung der Kotylarentwicklung bei *Pisum* nicht nur durch pflanzliche Hormone, sondern auch durch eine ganze Reihe heterogenster Agenzien, darunter anorganischer Substanzen, verhindert werden kann. Dies entspricht folgender Feststellung BÜNNINGS (1948, S. 112):

„Die ausgelöste Reaktion ist in ihrer Qualität von der chemischen Natur des Stoffes unabhängig, und sie kann zudem auch durch andere Einflüsse bedingt werden."

Ist die Auslösung einmal erfolgt, so vermag der applizierte Stoff allerdings quantitativ sehr verschiedenen Einfluß auf die Weiterentwicklung des ausgelösten Organs zu nehmen. Solche unterschiedliche Wirkungen sollen in der vorliegenden Arbeit für einige Wirkstoffe an *Vicia Faba* als Versuchsobjekt erfaßt werden. Es sind dies β-Indolylessigsäure, 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D oder als Fabrikbezeichnung der BASF „U 46"), Cumarin und Zimtsäure in verschiedenen Konzentrationen.

Ein weiteres Ziel dieser Untersuchung ist es, festzustellen, ob die ausgesprochenen Wuchsstoffe β-Indolylessigsäure und 2,4-D in höherer Konzentration als gewissermaßen unspezifische Hemmstoffe mit den eigentlichen Hemmstoffen Cumarin und Zimtsäure (MOEWUS 1949, 1950, S. 202) hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Knospenentwicklung übereinstimmen.

RAUH (1937, S. 505) stellte fest, daß unter gewissen Voraussetzungen auch die hapaxanthen *Linum*-Arten in der Lage sind, Hypokotylknospen zu bilden. Während bei pollakanthen Formen von *Linum* im normalen

Entwicklungsgang subkotyledonare Knospen entstehen und austreiben, ist dies bei hapaxanthen Arten, z. B. bei *Linum usitatissimum* nur unter folgenden Bedingungen möglich:

1. Die Entwicklung der Kotyledonen muß beeinträchtigt werden, sei es durch Abschneiden, durch Belassen in der Samenschale oder durch Lichtentzug.

2. Die Keimpflanze muß sich in sehr frühem Entwicklungsstadium befinden.

3. Nahrung und Licht müssen in ausreichender Menge vorhanden sein.

Die Hypokotylknospen von *Linum usitatissimum* stehen zu ihrer Kotyledonarregion in einem ähnlichen Korrelationsverhältnis wie die Kotyledonarknospen der *Papilionaceen*-Keimlinge zur embryonalen Sproßspitze. Im Gegensatz zu diesen lassen sich jedoch bei intakten *Linum*-Sämlingen keine Knospenanlagen erkennen.

Im Laufe vorliegender Untersuchung soll ermittelt werden, ob es sich bei der Unterdrückung subkotyledonarer Knospen von *Linum usitatissimum* um einen Vorgang handelt, der einer stofflichen Beeinflussung durch die auf Kotyledonarknospen von *Vicia Faba* wirksamen Substanzen zugänglich ist und in welcher Weise sich gegebenenfalls eine derartige Einwirkung äußert.

II. Methode und Material[1].

a) Versuche mit Vicia Faba.

Samen der Sorte *Vicia Faba var. equina* wurden in Torf ausgesät. Möglichst gleichartige Sämlinge mit 2—3 cm langen Epikotylen wurden nach etwa 7 Tagen einzeln in kleine Töpfe umgepflanzt. Nachdem die Keimlinge zu einer Größe von ungefähr 5 cm herangewachsen waren, wurde dicht unterhalb des ersten Niederblattes dekapitiert. Die Versuchslösungen wurden in Pastenform auf die Schnittfläche gebracht. Zum besseren Kontakt zwischen Epikotylstumpf und Paste erhielt die Schnittfläche vor dem Auftragen kleine Nadeleinstiche. Kontrollpflanzen wurden in entsprechender Weise mit Wasserpaste behandelt. Acht Tage nach dieser Behandlung wurde als Maß der Pastenwirkung die Länge der Kotyledonarsprosse festgestellt. Kontroll- und Versuchsserien umfaßten je 40 Einzelmessungen.

b) Versuche mit Linum usitatissimum.

Die Sämlinge von *Linum* wurden in größeren Kästen herangezogen und bei Auslese möglichst gleichartiger Keimlinge so weit gelichtet, bis ihr gegenseitiger Abstand etwa 3 cm betrug. Nach Dekapitation erhielten die etwa 5 Tage alten Sämlinge auf der Schnittfläche einen Wirkstoffpastenaufstrich. 14 Tage später wurden die entstandenen

[1] Die Versuche wurden von Frl. cand. rer. nat. Hedwig Kettler ausgeführt.

Hypokotylknospen gezählt und deren Längen mit Hilfe des Okularmikrometers gemessen. Jede Versuchs- und Kontrollreihe umfaßte je 30 Pflanzen. Sämtliche Untersuchungsobjekte befanden sich während der Versuchsdauer in einem Gewächshaus.

Die Pasten wurden aus *Adeps lanae* und Wirkstofflösung im Verhältnis 1 : 1 zusammengerieben und nach der Konzentration der Wirkstofflösung bezeichnet.

c) Statistische Sicherung der Ergebnisse.

Der Tatsache bewußt, daß die zu beobachtenden Merkmale einer starken Streuung unterliegen und bei der angewandten Methode mit erheblichen Meßfehlern zu rechnen ist, wurden nur einwandfrei statistisch gesicherte Resultate aus größeren Kollektiven gewertet (PÄTAU 1943, HOSEMANN 1949). Durch dieses Verfahren entsteht allerdings die Gefahr, echte Gesetzmäßigkeiten zu übersehen, die vielleicht bei Anwendung anderer Methoden erkennbar wären.

Die Zahl der Einzelbeobachtungen von Versuchs- und Kontrollserie betrug bei den Experimenten mit *Vicia Faba* 80 und bei jenen mit *Linum* 200—300. Bei der Größe dieser Zahlen ist anzunehmen, daß sich die Einzelwahrscheinlichkeiten der subjektiven und objektiven Abweichungen einer Normalverteilung einordnen.

$t_{\text{Diff.}}$, das Verhältnis von Mittelwertsdifferenz zum mittleren Fehler $\left(t_{\text{Diff.}} = \frac{M_1 - M_2}{\text{Diff}}\right)$ wurde nicht genau errechnet, wenn es sich einwandfrei als erheblich größer oder kleiner als das geforderte $t_{\text{Diff.}} = 3{,}1$ bei *Vicia* bzw. 3 bei *Linum* abschätzen ließ (HOSEMANN 1949, S. 74).

Das prozentuale Verhältnis der Differenz von Versuchs- und Kontrollserie zum Mittelwert der Wasserkontrolle, in den Tabellen mit Prozent bezeichnet, wurde nur bei statistisch gesicherten Unterschieden angegeben.

III. Einfluß von Wirkstoffen auf die Entwicklung der Kotyledonarknospen von *Vicia Faba*.

Tabelle 1. *Einwirkung von β-indolylessigsaurem Kalium.*
Wasserkontrolle: 1,99 ± 0,08 cm.

Het.-Auxin mol	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	$2 \cdot 10^{-2}$	$2{,}5 \cdot 10^{-2}$
Kot.-Sprosse cm	1,95 ± 0,12	1,87 ± 0,04	1,69 ± 0,06	1,00 ± 0,03	0,42	0,32	0,00 unentwickelt
Diff. cm	− 0,04 ± 0,16	− 0,12 ± 0,09	− 0,30 ± 0,10	− 0,99 ± 0,09	− 1,57	− 1,67	− 1,99
%			− 15	− 50	− 79	− 84	− 100
$t_{\text{Diff.}}$	0,3	1,3	3,0	11	> 3,1	> 3,1	> 3,1

Da das $3\,\sigma_{\text{Diff.}}$-Äquivalent bei 79 Freiheitsgraden (40 Einzelmessungen jeder Reihe, $n_1 + n_2 - 1 = 79$) 3,1 beträgt (HOSEMANN 1949, S. 74), sind die Differenzen von Konzentration 10^{-4} aufwärts mit einer Überschreitungswahrscheinlichkeit des Zufallsbereiches von höchstens 0,27% statistisch gesichert. Die gegenseitigen (nicht angegebenen) Differenzen der zu den Konzentrationen 10^{-4}, 10^{-3} und 10^{-2} gehörenden Werte sind ebenfalls gesichert.

Deutliche Hemmwirkung auf austreibende Kotylare setzt bei 10^{-4}-molarer β-Indolylessigsäure ein und führt bei $2{,}5 \cdot 10^{-2}$ mol zu völliger Unterdrückung des Kotyledonarknospenwachstums.

Tabelle 2. *Einwirkung von 2,4 Dichlorphenoxyessigsäure (2,4 D).*
Wasserkontrolle: $1{,}99 \pm 0{,}08$ cm.

2,4-D mol	10^{-7}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
Kot.-Sprosse cm	1,97	$1{,}81 \pm 0{,}07$	$1{,}41 \pm 0{,}08$	unentwickelt	unentwickelt
Diff.	$+0{,}02$	$-0{,}18 \pm 0{,}10$	$-0{,}58 \pm 0{,}11$	$-1{,}99$	$-1{,}99$
%			-29	-100	-100
$t_{\text{Diff.}}$	$<3{,}1$	1,8	5,3	$>3{,}1$	$>3{,}1$

Deutlich erkennbare Hemmungskonzentration des 2,4-D beginnt wie die von Heteroauxin bei 10^{-4} mol, führt aber bereits bei 10^{-3} mol zu völliger Sistierung des Kotylarwachstums.

Tabelle 3. *Einwirkung von Zimtsäure.*
Wasserkontrolle: $1{,}87 \pm 0{,}04$ cm.

Zimtsäure mol	10^{-6}	10^{-4}	10^{-2}
Kot.-Sprosse cm	$1{,}51 \pm 0{,}06$	1,41	1,38
Diff. cm	$-0{,}36 \pm 0{,}07$	$-0{,}46$	$-0{,}49$
%	-19	-25	-26
$t_{\text{Diff.}}$	5,1	$>3{,}1$	$>3{,}1$

Tabelle 4. *Einwirkung von Cumarin.*
Wasserkontrolle: $1{,}99 \pm 0{,}08$ cm.

Cumarin mol	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
Kot.-Sprosse cm	1,93	1,91	1,91	1,88	$1{,}85 \pm 0{,}10$
Diff. cm	$-0{,}06$	$-0{,}08$	$-0{,}08$	$-0{,}11$	$-0{,}14 \pm 0{,}13$
$t_{\text{Diff.}}$	<1	<1	<1	<1	1,08

Zimtsäure und Cumarin sind bei den hier verwendeten Konzentrationen nicht in der Lage, das Wachstum der Kotyledonarknospen völlig zu unterdrücken. Während Zimtsäure deutliche Hemmwirkung

aufweist, ist eine solche bei Cumarin nicht festzustellen. Da alle Differenzen negativ sind, muß jedoch angenommen werden, daß auch Cumarin schwache Hemmwirkung entfaltet.

Im Gegensatz zu den eigentlichen Hemmstoffen sind nur die ausgesprochenen Wuchsstoffe Heteroauxin und 2,4-D in den hier angewandten Konzentrationen zur völligen Unterdrückung der Kotyledonarknospenentwicklung befähigt.

IV. Einfluß von Wirkstoffen auf die Zahl der am Hypokotylstumpf gebildeten Knospen von *Linum usitatissimum*.

Tabelle 5. *Einwirkung von β-indolylessigsaurem Kalium.*

Het.-Auxin mol	10^{-6}	11^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
Knospen, Anzahl	5,0	7,2	$5,3 \pm 4,7$	7,1	0,0
Wasserkontrolle	$4,3 \pm 0,36$	$7,7 \pm 0,44$	$4,3 \pm 0,36$	$7,7 \pm 0,44$	$7,7 \pm 0,44$
Diff.	$+0,7$	$-0,5$	$+1,0 \pm 0,65$	$-0,6$	$-7,7$
$t_{Diff.}$	$<3,1$	$<3,1$	1,5	$<3,1$	$>3,1$

Tabelle 6. *Einwirkung von 2,4-D.*

2,4-D mol	10^{-7}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
Knospen, Anzahl	3,4	$4,3 \pm 0,32$	3,7	0,00	0,00
Wasserkontrolle	4,2	$5,7 \pm 0,34$	4,2	4,2	4,2
Diff.	$-0,8$	$-1,4 \pm 0,46$	$-0,5$	$-4,2$	$-4,2$
$t_{Diff.}$	$<3,1$	3,0	$<3,1$	$>3,1$	$>3,1$

Tabelle 7. *Einwirkung von Zimtsäure.*
Wasserkontrolle: $4,3 \pm 0,36$ Knospen je Hypokotyl.

Zimtsäure mol	10^{-6}	10^{-4}	10^{-2}
Knospen, Anzahl	4,7	4,9	4,3
Diff.	0,4	0,6	0,0
$t_{Diff.}$	$<3,1$	$<3,1$	$<3,1$

Tabelle 8. *Einwirkung von Cumarin.*
Wasserkontrolle: $4,3 \pm 0,36$ Knospen je Hypokotyl.

Cumarin mol	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
Anzahl der Knospen	4,8	$5,5 \pm 2,9$	5,3	4,7	4,7
Diff.	$+0,5$	$+1,2 \pm 4,6$	$+1,0$	$+0,4$	$+0,4$
$t_{Diff.}$	$<3,1$	2,6	$<3,1$	$<3,1$	$<3,1$

Nur die beiden ausgesprochenen Wuchsstoffe β-Indolylessigsäure und 2,4-D sind ähnlich wie bei *Vicia Faba* in der Lage, bei Konzentrationen von $^1/_{100}$ bzw. $^1/_{1000}$ mol aufwärts das Austreiben der Hypokotyl-

knospen vollständig zu verhindern. Die eigentlichen Hemmstoffe Cumarin und Zimtsäure sind dazu selbst bei unphysiologisch hohen Konzentrationen von $^1/_{10}$ bzw. $^1/_{100}$ mol nicht befähigt.

Kommen Hypokotylknospen zur Ausbildung, so weist deren Zahl bei keinem der angewandten Stoffe und keiner Konzentration einen statistisch gesicherten Unterschied gegenüber der jeweiligen Wasserkontrolle auf[1]. Die Wirkung der angewandten Stoffe folgt somit einer Alles- oder Nichtsreaktion, was die Annahme wahrscheinlich macht, daß Hypokotylknospen bei *Linum usitatissimum* physiologisch vorgebildet sind, deren Entwicklung aber durch stoffliche Einflüsse entweder insgesamt verhindert oder vollzählig ausgelöst wird. Die Unterdrückung kann auch durch einen körperfremden Wuchsstoff wie 2,4-D erfolgen.

Die einmal ausgelöste Knospenentwicklung kann, wie der folgende Abschnitt lehrt, durch die applizierten Stoffe entweder nicht beeinflußt oder gehemmt oder gefördert werden.

V. Einfluß von Wirkstoffen auf die Entwicklung der am Hypokotylstumpf gebildeten Knospen von *Linum usitatissimum*.

Tabelle 9. *Einwirkung von β-indolylessigsaurem Kalium.*

Het.-Auxin mol	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
Hyp.-Knospen mm	0,55	0,58 ± 0,07	0,48	0,25	0,00
Wasserkontrolle mm	0,53 ± 0,03	0,74 ± 0,04	0,53 ± 0,03	0,74 ± 0,04	0,74 ± 0,04
Diff. mm	+0,02	−0,16 ± 0,08	−0,05	−0,49	
%				−66	−100
$t_{Diff.}$	<3	2	<3	>3	>3

Deutliche Hemmwirkung des Heteroauxins läßt sich erst bei Konzentrationen von über 10^{-4} mol erkennen. Es ist anzunehmen, daß Heteroauxin in einem unter 10^{-6} mol liegenden Konzentrationsbereich fördernden Einfluß auf das Hypokotylknospenwachstum ausübt (Bünning 1948, S. 108).

Tabelle 10. *Einwirkung von 2,4-D.*

2,4-D mol	10^{-7}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
Hyp.-Knospen mm	0,61 ± 0,03	0,43	0,21 ± 0,03	0,00	0,00
Wasserkontrolle mm	0,41 ± 0,03	0,57 ± 0,03	0.41 ± 0,03	0.41	0,41
Diff.	+0,20 ± 0,04	−0,14	−0,20 ± 0,04	−0,41	−0,41
%	+49	−25	−49	−100	−100
$t_{Diff.}$	4	>3	4	>3	>3

[1] Die $t_{Diff.}$-Werte liegen mit einer Ausnahme (10^{-5} mol 2,4-D, Tabelle 6) erheblich unter dem zu fordernden Wert von 3,1.

Sämtliche Differenzen der in obiger Tabelle wiedergegebenen Versuchsreihen stellen gesicherte Ergebnisse dar, da das zu fordernde $t_{Diff} = 3$ durchweg überschritten ist.

Von besonderem Interesse ist die Tatsache, daß mit einer schwachen 2,4-D-Konzentration (10^{-7} mol) das Austreiben der Hypokotylknospen gefördert werden kann. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure stellt somit auch für die Entwicklung von Hypokotylknospen einen echten Wuchsstoff dar mit konzentrationsbedingtem Förderungs- und Hemmbereich. Die Indifferenzkonzentration zwischen beiden Bereichen liegt bei etwa 10^{-6} mol.

Tabelle 11. *Einwirkung von Zimtsäure.*
Wasserkontrolle: 0,53 ± 0,03 mm.

Zimtsäure mol	10^{-6}	10^{-4}	10^{-2}
Hyp.-Knospen mm	0,43 ± 0,013	0,37	0,30
Diff.	−0,10 ± 0,034	−0,16	−0,23
%	−19	−30	−43
$t_{Diff.}$	2,94	>3	>3

Die Hemmung des Knospenwachstums durch Zimtsäure ist nur bei hohen Konzentrationen beträchtlich.

Tabelle 12. *Einwirkung von Cumarin.*
Wasserkontrolle: 0,53 ± 0,03 mm.

Cumarin mol	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
Hyp.-Knospen mm	0,51	0,51	0,50	0,48	0,47
Diff.	−0,02	−0,02	−0,03	−0,05	−0,06
$t_{Diff.}$	<3	<3	<3	<3	etwa 1,5

Die in obiger Tabelle dargestellten Differenzen liegen innerhalb des eineinhalbfachen Wertes der mittleren Abweichung vom Durchschnittswert, sind also als Zufallsergebnisse anzusehen. Eine schwache Hemmwirkung des Cumarins ist auch hier wahrscheinlich (vgl. S. 342).

Die Versuche dieses Abschnitts weisen 2,4-D als wirksamste Substanz bezüglich ihres Einflusses auf Auslösung und Entwicklung der Hypokotylknospen von *Linum usitatissimum* aus. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure reicht mit einem Konzentrationsintervall von nur 3 Zehnerpotenzen zwischen 10^{-4} und 10^{-7} mol einerseits tief in den Hemmbereich und andererseits ebenso weit in den Förderbereich.

Konzentrationen über 10^{-3} mol wirken toxisch.

Daß β-Indolylessigsäure von 2,4-D in ihrer Aktivität erheblich übertroffen wird, haben auch RAOUL und GAUTHERET (1947) auf dem Wege der Beeinflussung von Karotten- und Topinamburkulturen in vitro festgestellt.

Zusammenfassung.

1. Sowohl die Versuche mit *Vicia Faba* als auch die mit *Linum usitatissimum* haben erkennen lassen, daß trotz aller Unspezifität ihrer Wirkungsweise die ausgesprochenen Wuchsstoffe Heteroauxin und 2,4-D in Konzentrationen des Hemmbereiches und die eigentlichen Hemmstoffe Zimtsäure und Cumarin sich nicht nur quantitativ sondern auch qualitativ hinsichtlich ihrer Wirkung auf Kotyledonar- und Hypokotylknospen unterscheiden. Nur die Wuchsstoffe sind sowohl zur völligen Unterdrückung als auch zur Förderung der Knospen befähigt. Die Hemmstoffe wirken in physiologischen Konzentrationen nur schwach oder mäßig hemmend auf die Entwicklung der Knospen.

2. β-Indolylessigsäure wird in ihrer Aktivität von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) übertroffen.

3. Es wird wahrscheinlich gemacht, daß die Hypokotylknospen der Keimlinge von *Linum usitatissimum* physiologisch vorgebildet sind.

Literatur.

Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Heidelberg 1948. — Hosemann, H.: Die Grundlagen der statistischen Methoden für Mediziner und Biologen. Stuttgart 1949. — Moewus, F.: Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Kressewurzel. Biol. Zbl. **68**, 58 (1949). — Über ein Blastocolin der *Chlamydomonas*-Zygoten. Z. Naturforschg **5b** (1950). — Müller, A. M.: Über den Einfluß von Wuchsstoff auf das Austreiben der Seitenknospen und auf die Wurzelbildung. Jb. Bot. **81**, 497 (1935). — Pätau, K.: Zur statistischen Beurteilung von Meßreihen. Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — Plch, B.: Über den Einfluß einiger Phytohormone auf die Korrelationswirkung der Keimblätter bei *Pisum sativum*. Beih. bot. Zbl. A **55**, 358 (1936). — Raoul, Y., und R. J. Gautheret: Die Wirkung der β-Naphthoxyessigsäure und der 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure auf die Entwicklung des Gewebes von Karotten- und Topinamburkulturen in vitro. C. R. Séances Soc. Biol. Paris **141**, 129 (1947). Zit. nach Chem. Zbl. **119**, 981 (1948). — Rauh, W.: Die Bildung von Hypokotyl- und Wurzelsprossen und ihre Bedeutung für die Wuchsformen der Pflanzen. Nova Acta Leopold., N. F. **4**, Nr 24 (1937). — Thimann, K., and F. Skoog: On the inhibitions of bud development and other functions of growth substance in *Vicia Faba*. Proc. roy. Soc. Lond. **114** (1934).

Privatdozent Dr. K. Höhn, Mainz, Botanisches Institut der Universität.

Planta, Bd. 39, S. 346—376 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Darmstadt.

ÜBER DEN EINFLUSS VON SCHÜTTELBEWEGUNGEN AUF STRUKTUR UND FUNKTION DES PFLANZLICHEN PLASMAS*.

Von

HELENE KAHL.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Februar 1951.)

A. Einleitung.

Zu der Frage, welche Vorgänge in pflanzlichen und tierischen Organismen durch Erschütterungen als „Schütteleffekt" oder „thixotroper Effekt" ausgelöst werden, liegen bisher nur wenige Untersuchungen vor. Den Einfluß starker Luftbewegungen auf die pflanzliche Transpiration untersuchten GÄUMANN und JAAG und GÄUMANN, die Wirkung des Schüttelns auf keimenden Senfsamen COULT, auf die Viskosität des Amöbenplasmas ANGERER, auf die Entwicklung von Seeigeleiern MATHEWS und WHITCHER und auf die Viskosität der stärkehaltigen Scheide von *Phaseolus*-Keimlingen WEBER (1917). Hinweise über mechanische Beeinflussung des Plasmas durch Druck, Stoß oder Zentrifugalkraft finden wir bei ANDREWS, FITTING (1925), JANSE (zit. nach COULT), BROWN und MARSLAND, KÜSTER (1939) und ANDUS. Auf Einzelheiten dieser Arbeiten werden wir bei der Diskussion unserer Versuchsergebnisse eingehen.

Da diese Arbeiten mit Ausnahme der von COULT jeweils nur die mechanische Beeinflussung *einer* bestimmten Funktion untersuchen, ist eine Deutung der zugrunde liegenden plasmatischen Vorgänge schwierig und wird nur in wenigen Fällen versucht. Wir werden von der Analyse mehrerer plasmatischer Zustandsgrößen und physiologischer Prozesse ausgehen, um aus ihrem Gesamtkomplex Rückschlüsse auf die primäre Schüttelbeeinflussung der Plasmastruktur ziehen zu können.

B. Schüttelapparatur.

Zur Erzeugung der Schüttelbewegungen dienten zwei der in chemischen Laboratorien üblichen Konstruktionen von Schüttelapparaten. Ihre Bewegung

* Die vorliegende Arbeit entstand in den Jahren 1942—1944 als Dissertation der Technischen Hochschule Darmstadt. Das von dieser Zeitschrift angenommene Manuskript ging in den Kriegswirren verloren; aus verschiedenen Gründen war eine neue Niederschrift, welche die seither erschienene Literatur nicht berücksichtigt, erst jetzt möglich. Herrn Prof. Dr. O. STOCKER bin ich für die Anregung und dauernde Förderung der Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

kann als Sinusschwingung aufgefaßt werden und ist als solche physikalisch definiert durch die Frequenz F (1 Hertz = Anzahl Schwingungen je Sekunde) und die Schwingungsamplitude a (in Zentimeter). Aus der stroboskopisch ermittelten Frequenz berechnet sich die Winkelgeschwindigkeit $\omega = 2\pi F$ und aus $a \cdot \omega^2$ die Beschleunigung b.

Bei Apparat 1, im folgenden als A_1 bezeichnet, wurde das Versuchsblatt in einem Reagensglas oder Erlenmeyerkolben auf einem Schütteltisch durch Motorantrieb hin und her bewegt. Durch Verwendung verschieden großer Übersetzungen ließen sich zwei Schüttelbewegungen von verschiedener Frequenz erzielen.

A_1' Amplitude $a = 4{,}45$ cm.
Frequenz $F = 1{,}66$ Hertz.
Winkelgeschwindigkeit $\omega = 10{,}42\ \text{sec}^{-1}$.
Beschleunigung $b = 483\ \text{cm} \cdot \text{sec}^{-2}$.

A_2'' Amplitude $a = 4{,}45$ cm.
Frequenz $F = 4$ Hertz.
Winkelgeschwindigkeit $\omega = 25{,}12\ \text{sec}^{-1}$.
Beschleunigung $b = 2808\ \text{cm} \cdot \text{sec}^{-2}$.

Bei Apparat 2, im folgenden als A_2 bezeichnet, war auf einer durch Motorantrieb in Schwingung versetzten Stahlfeder ein Stativ angebracht, an dem das Gefäß mit dem Versuchsblatt befestigt wurde.

Amplitude $a = 0{,}8$ cm.
Frequenz $F = 16$ Hertz.
Winkelgeschwindigkeit $\omega = 100{,}48\ \text{sec}^{-1}$.
Beschleunigung $b = 8077\ \text{cm} \cdot \text{sec}^{-2}$.

C. Versuche.

I. Permeabilität.

a) Versuchsobjekt und Methode.

Untersucht wurde die Permeation der Nichtelektrolyte Rohrzucker, Traubenzucker, Glyzerin und Harnstoff und des Wassers. Als Versuchsobjekte dienten die Epidermiszellen der Blattunterseite von *Rhoeo discolor*. Die individuellen Schwankungen der Permeabilität, des osmotischen Wertes usw. wurden durch Verwendung der beiden Blatthälften als Versuch und Kontrolle ausgeschaltet.

Die Messungen erfolgten nach einer auf das Objekt zugeschnittenen Modifikation der *plasmometrischen Methode* von Höfler (1918) und zur Kontrolle auch nach der *grenzplasmolytischen Methode* von Fitting (1915).

Aus den mit plasmolytischen Methoden gewonnenen Ergebnissen darf, da die natürliche Permeabilität unter dem Einfluß der Plasmolytika (Fitting 1915, Cholodny, Ruhland und Hoffmann, Iljin, Kaho, Ruhland, Ullrich und Endo, Bogen) und der Plasmolyse (Pràt 1922, Lepeschkin 1927, Albach 1931) meist eine mehr oder weniger starke Änderung erfährt, nur unter Vorbehalt auf das Verhalten der intakten turgeszenten Zelle geschlossen werden (Lundegårdh 1932, S. 71). Die Beeinflussung verschiedener Plasmen durch Plasmolyse ist artspezifisch, wobei im allgemeinen niedrig permeable Objekte weniger empfindlich sind als hoch permeable (Schmidt 1936). Da für *Rhoeo discolor* bisher kein Unterschied zwischen

normaler und „Plasmolysepermeabilität" gefunden wurde (FITTING 1915, COLLANDER und BÄRLUND, BÄRLUND, SCHMIDT 1936), sind plasmolytische Meßmethoden in unserem Falle berechtigt, zumal da wir nur Permeabilitätsvergleiche innerhalb ein und desselben Blattes unter gleichen Plasmolysebedingungen anstellen. Dabei auftretende Verschiedenheiten beweisen auf alle Fälle eine Beeinflussung der Permeabilität durch das Schütteln.

Zu der vorgenommenen Abänderung der *plasmometrischen Methode* ist grundsätzlich folgendes zu bemerken:

HÖFLER kennzeichnet den Plasmolyseverlauf durch die zeitliche Änderung des Protoplastenvolumens, bezogen auf das Volumen der turgorlosen Zelle. Der Quotient $\frac{\text{Protoplastenvolumen}}{\text{turgorloses Volumen}}$, „Plasmolysegrad" genannt, wird mit zunehmender Protoplastenkontraktion kleiner und steigt bei Deplasmolyse wieder bis zum Ausgangswert 1 an. Die Volumenbestimmung des Plasmakörpers ist aber nach der von HÖFLER angegebenen Methode nur bei geometrisch einfachen Zell- und Protoplastenformen möglich; *Rhoeo* entspricht dieser nur bei wenigen Objekten verwirklichten Forderung leider nicht. Die Gestaltverhältnisse sind jedoch so, daß man zur Beurteilung des Plasmolyseverlaufes die im Flächenschnitt sichtbare Formänderung des Protoplasten heranziehen und statt des Verhältnisses $\frac{\text{Protoplastenvolumen}}{\text{Zellvolumen}}$ den Quotienten $\frac{\text{größter Protoplastenquerschnitt}}{\text{Zellquerschnitt}}$ benutzen kann. Er wird im folgenden als „planimetrischer" Plasmolysegrad bezeichnet und ist zahlenmäßig natürlich von dem HÖFLERschen „volumetrischen" Plasmolysegrad verschieden.

Die Epidermiszellen von *Rhoeo* können als sechsseitige Prismen von der Form der Abb. 1 aufgefaßt werden. Wenn der Protoplast während seiner Volumkontraktion die Form eines Zylinders beibehielte (Abb. 1a), wäre $\frac{\text{Querschnitt Protoplast}}{\text{Querschnitt Zelle}} = \frac{\text{Querschnitt Protoplast mal Höhe}}{\text{Querschnitt Zelle mal Höhe}} = \frac{\text{Volumen Protoplast}}{\text{Volumen Zelle}}$, d. h. der planimetrische Plasmolysegrad gleich dem volumetrischen. In Wirklichkeit rundet sich jedoch der Protoplast ab, im Grenzfall bis zur Kugelgestalt (Abb. 1b). Wir messen dann die Fläche des größten Kugeldurchschnittes, die größer als der Querschnitt des volumgleichen Zylinders ist, so daß die planimetrischen Plasmolysegrade zahlenmäßig größer als die volumetrischen sind. Sie besitzen daher nur Vergleichswert und lassen keine Berechnung absoluter Permeabilitätsgrößen zu.

Da sich zu Beginn der Plasmolyse die Protoplasten oft recht unregelmäßig von den Zellwänden ablösen, sind die Anfangswerte der Plasmolysegrad-Zeitkurven (Abb. 2—4) mit größeren Fehlern behaftet. Man kann sie herabsetzen durch Anwendung von Konzentrationen des Plasmolytikums, die eine glatte Ablösung des Protoplasten begünstigen (vgl. KÜSTER 1942, WEBER 1919/21, FREY-WYSSLING).

Vielfach wird zur schnelleren Abrundung (HÖFLER 1918, CHOLODNY, WEIS, KACZMAREK), und auch um Meßfehler durch Exosmose auszuschalten (FITTING 1915, ILJIN), eine 4—6stündige Wässerung der Schnitte empfohlen. Da unsere Messungen unmittelbar anschließend an das Schütteln vorgenommen werden mußten, haben wir darauf verzichtet, was sich auch zur Vermeidung von Permeabilitäts- und Viskositätsänderungen empfahl (ILJIN, FITTING 1920, EL DERRY, KAMIYA, HÄRTEL).

Zur Durchführung der Versuche dienten *Rhoeo*-Pflanzen aus Topfkulturen des Botanischen Gartens. Eine Längshälfte eines Blattes wurde auf Apparat A_1' oder A_1'' (vgl. oben) 60 oder 30 min geschüttelt. Danach fertigten wir aus der mittleren

Region der durch Anthocyan rot gefärbten Unterseite beider Blatthälften möglichst gleich dicke Flächenschnitte an und verwendeten sie teils zur Bestimmung des osmotischen Wertes, teils zur Bestimmung der Permeabilität.

Der *osmotische Wert* wurde grenzplasmolytisch in Traubenzuckerlösungen ermittelt, deren Konzentrationen auf 0,01 molar abgestuft waren. Die Schnitte auseinander entsprechenden Regionen zweier Blatthälften ergaben dabei weitgehend übereinstimmende Werte.

Die als *Plasmolytika* dienenden Lösungen von Rohrzucker, Traubenzucker, Glyzerin und Harnstoff wurden vor jedem Versuch aus volummolaren Stammlösungen frisch hergestellt. Zur Erzielung glatter Plasmolyseformen eigneten sich am besten Konzentrationen zwischen 0,3 und 0,5 molar. Die Plasmolyse fand in Deckelschälchen mit 5—10 cm^3 Lösung statt.

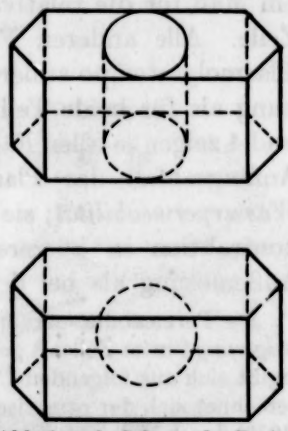


Abb. 1a u. b. Schema der Protoplastenkontraktion bei Plasmolyse der Epidermiszellen von *Rhoeo* (vgl. Text).

Zur *plasmometrischen* Messung wurde, in Anlehnung an Ursprung und Blum, Prát (1922) sowie Huber und Höfler, kurz nach Eintritt der Grenzplasmolyse in einem Schnitt ein Komplex von 5—10 Versuchszellen ausgewählt und im Umriß der Zellen und Protoplasten mit dem Zeichenokular aufgezeichnet. Nach der Messung, die nie länger als 5 min dauerte, kamen die Schnitte sofort wieder in die Lösung zurück. Wir bemühten uns, den gesamten Plasmolyseverlauf möglichst an ein und derselben Zellgruppe eines Schnittes zu verfolgen und sind nur in wenigen Fällen, in denen es uns nicht gelang, die Zellen wieder aufzufinden, von diesem Grundsatz abgewichen. Zur Orientierung am Schnitt leistete ein in Quadrate eingeteiltes Okularmikrometer gute Dienste. Der Plasmolyseverlauf wurde in kurzen Zeitabständen mikroskopisch verfolgt und in charakteristischen Stadien aufgezeichnet. Dadurch ist auch der Kurvenverlauf zwischen den einzelnen Meßpunkten durch Beobachtung gesichert. Zur Auswertung wurden die gezeichneten Umrisse planimetriert und die Plasmolysegrade als Mittelwert aus jeweils 5 Zellen berechnet.

Die fehlerstatistische Durchrechnung ergibt, daß die Standardabweichung der so gewonnenen Mittelwerte durchschnittlich bei 0,036, d. h. etwa 4,5% liegt und damit keine ausreichende Sicherung beim Vergleich einzelner Werte gewährleistet. Der Gesamtverlauf der Kurven jedoch ist durch die ausnahmslose Übereinstimmung zahlreicher Versuchsreihen völlig sichergestellt.

Zur *grenzplasmolytischen* Bestimmung der Glyzerin- und Harnstoffpermeabilität nach Fitting wurden zwei Konzentrationsreihen hergestellt (vgl. Brauner, S. 53):

1. Harnstoffreihe: 0,22 0,23 0,24 ... 0,30 molar.
2. Glyzerinreihe: 0,22 0,23 0,24 ... 0,30 molar.

In jede Konzentrationsstufe wurden 2 Schnitte eingelegt. Nach 30, 60 und 90 min wurde geprüft, in welcher Konzentration Grenzplasmolyse vorlag. Zur Kennzeichnung der Permeationsgeschwindigkeit dient der temporäre, osmotische Koeffizient C_z/C_p (Bärlund). Dabei ist C_z = „Normalzuckerwert" = Grenzkonzentration einer mit dem Plasmolytikum isotonischen Zuckerlösung, C_p = Grenzkonzentration des betreffenden Plasmolytikums zu einem bestimmten Zeitpunkt. Der Koeffizient ist um so kleiner, je leichter das Plasmolytikum permeiert und je länger es einwirkt.

b) Ergebnisse.

1. Plasmometrische Methode von HÖFLER.

α) *Wasserpermeabilität.* Zur Beurteilung der Wasserpermeabilität vergleichen wir den Plasmolyseverlauf der ungeschüttelten und geschüttelten Zellen in den nur schwach permeierenden Lösungen von Rohrzucker, Traubenzucker und Harnstoff. Unter Vernachlässigung der nur geringen Endosmose ist in unserer vergleichenden Versuchsanordnung die Geschwindigkeit der Volumenverkleinerung des Protoplasten ein Maß für die relative Geschwindigkeit des Wasseraustrittes aus der Zelle. Alle anderen Faktoren, von denen nach HÖFLER (1931) das Plasmolysetempo außerdem abhängt, sind durch unsere Versuchsanordnung als für beide Teilversuche gleich groß ausgeschaltet. Die Abb. 2 und 4 zeigen in allen Fällen für die *geschüttelten* Zellen einen viel steileren Anfangsabfall des Plasmolysegrades und damit eine *Erhöhung der Wasserpermeabilität*; sie führt unter rasch fortschreitender Protoplastenkontraktion in kürzerer Zeit zum Konzentrationsausgleich mit der Außenlösung als bei den ungeschüttelten Zellen.

Die Permeabilitätserhöhung für Wasser ist wahrscheinlich mit einer *Exosmosesteigerung* für im Zellsaft gelöste, osmotisch wirksame Substanzen verbunden. Das ergibt sich aus folgenden Überlegungen: Aus der Größe des Endplasmolysegrades berechnet sich der osmotische Wert der nicht plasmolysierten Zelle nach HÖFLER (1918) durch Multiplikation mit der Konzentration des Plasmolytikums ($O = C \cdot G$). In Tabelle 1 sind einige auf diese Weise aus unseren planimetrischen Plasmolysegraden berechnete Werte den vor der Plasmolyse grenzplasmolytisch ermittelten gegenübergestellt.

Tabelle 1. *Rhoeo discolor.*

A osmotischer Wert bei Grenzplasmolyse, in Mol Traubenzucker; *B* osmotischer Wert bei Endplasmolyse, berechnet aus $O = C \cdot G$ (G = planimetrischer Plasmolysegrad) in Mol des betreffenden Plasmolytikums; Schüttelapparat A_1'' ($F = 4$ Hertz, $a = 4{,}45$ cm). Schüttelzeit 30 min.

Plasmolytikum	a Ungeschüttelt		b Geschüttelt	
	A	*B*	*A*	*B*
Traubenzucker . .	0,23	0,212	0,23	0,196
Traubenzucker . .	0,24	0,249	0,24	0,237
Traubenzucker . .	0,25	0,285	0,25	0,245
Rohrzucker. . . .	0,21	0,212	0,21	0,200
Harnstoff.	0,23	0,232	0,23	0,216
Mittel	0,232	0,238	0,232	0,219
Differenz *A*—*B* . .	$-0{,}006 \pm 0{,}016$		$+0{,}013 \pm 0{,}012$	

Da die planimetrischen Plasmolysegrade etwas zu große Werte liefern (vgl. Abb. 1), sind in Tabelle 1 unter *B* höhere Werte als unter *A* zu erwarten. Das ist bei den ungeschüttelten Zellen im allgemeinen auch der Fall, wenn auch nur innerhalb der Fehlergrenze (Mittelwert $A:B = 0{,}232:0{,}238$). Bei den geschüttelten dagegen liegt der Plasmolysegrad und damit der *berechnete* osmotische Wert stets niedriger (wenigstens außerhalb 1σ), als nach Maßgabe des *grenzplasmolytisch*

ermittelten osmotischen Wertes zu erwarten wäre (Mittelwert $A:B = 0{,}232:0{,}219$), was auf einen Austritt osmotisch wirksamer Substanzen während der Plasmolyse hinweist.

Auf die von HÖFLER (1930) angegebene Bestimmung der Wasserpermeabilität aus der Deplasmolysezeit in einer Plasmolytikumkonzentration, welche gegenüber der zur Plasmolyse verwendeten hypotonisch ist, mußte verzichtet werden, weil der

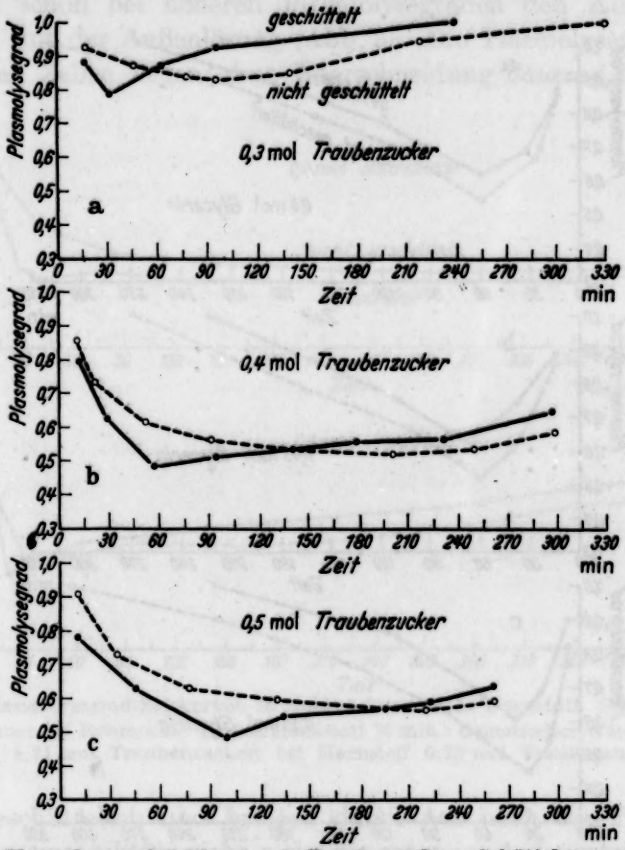


Abb. 2a—c. Plasmolysegrad-Zeitkurven in Traubenzucker, Schüttelapparat A_1'' Schüttelldauer 30 min. Osmotischer Wert (Grenzplasmolyse) bei a 0,24 mol Traubenzucker, bei b 0,23 mol, bei c 0,25 mol.

Plasmolysegrad der ungeschüttelten und der geschüttelten Zellen verschieden groß ist und ein Schütteln vorplasmolysierter Schnitte sich aus verschiedenen Gründen nicht empfiehlt. Aus demselben Grund scheidet diese Methode auch bei der Bestimmung der Permeabilität für Zucker, Harnstoff und Glyzerin aus, der wir uns nun zuwenden.

β) Zuckerpermeabilität. Wir beurteilen die Zuckerpermeabilität nach dem Gesamtverlauf der Plasmolysegrad-Zeitkurven der Abb. 2. Da nach Einstellung des osmotischen Gleichgewichtes kein Konzentrationsgefälle zwischen Außenlösung und Zellsaft mehr besteht, muß eine Wiederausdehnung der Protoplasten durch das allmähliche Eindringen des Plasmolytikums verursacht sein. Diese Volumzunahme erfolgt in *Traubenzucker*lösungen bei den geschüttelten Protoplasten schneller und ist

eher beendet als bei den ungeschüttelten, so daß sich die beiden Plasmolysegrad-Zeitkurven überschneiden. *Die Permeabilität für Traubenzucker wird also durch das Schütteln erhöht.* Die absoluten Deplasmolysezeiten sind jedoch nicht unmittelbar vergleichbar, weil die Wiederausdehnung bei den geschüttelten Zellen von einem kleineren Plasmolysegrad aus erfolgt.

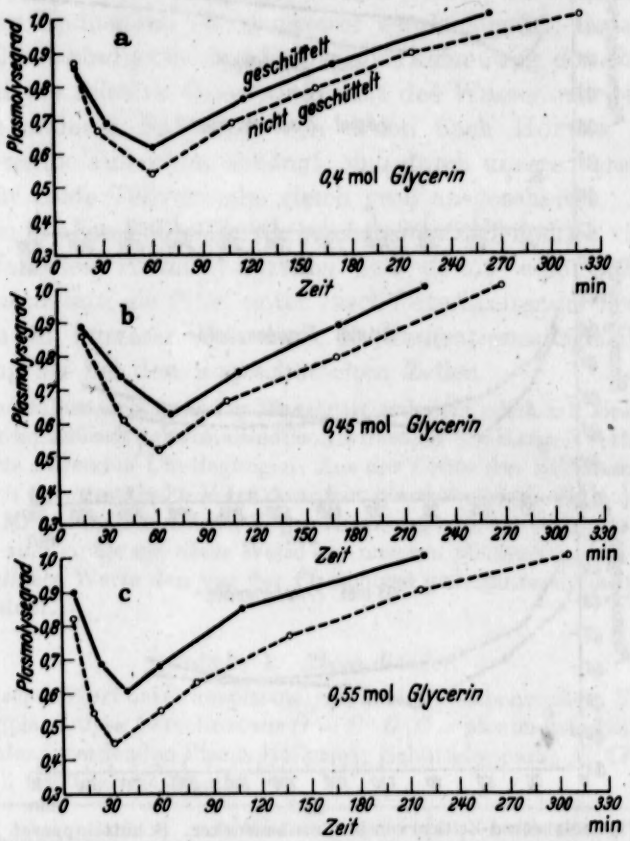


Abb. 3a—c. Plasmolysegrad-Zeitkurven in Glyzerin. Schüttelapparat A_1'', Schütteldauer 30 min. Osmotischer Wert bei a 0,20 mol Traubenzucker, bei b 0,21 mol, bei c 0,22 mol.

*Rohrzucker*lösungen permeieren zwar ebenfalls, aber nur in sehr geringen Mengen (BÄRLUND, HÖFLER 1930) und schädigen bei der notwendigen langen Einwirkungsdauer die Zellen sichtbar, so daß zwar bei den geschüttelten Zellen die anfängliche Förderung der Plasmolyse durch erhöhten Wasseraustritt deutlich hervortritt (Abb. 4), über Unterschiede im Deplasmolysetempo bei den ungeschüttelten und geschüttelten Zellen aber nichts ausgesagt werden kann.

γ) *Glyzerinpermeabilität. Rhoeo discolor* gehört im Sinne der „spezifischen Permeabilitätsreihen" HÖFLERS zum *Glyzerintyp.* Die Permeabilität für Glyzerin ist etwa 3—5mal so groß als für Harnstoff (BOGEN).

Durch das *Schütteln* wird die *Permeationsgeschwindigkeit des Glyzerins* noch *erheblich erhöht*, so daß die geförderte Glyzerinendosmose die ebenfalls gesteigerte Wasserexosmose übertrifft. Die Protoplasten der geschüttelten Zellen kontrahieren sich infolgedessen, im Gegensatz zur Traubenzuckerplasmolyse, langsamer als die der ungeschüttelten und erreichen schon bei höheren Plasmolysegraden den Konzentrationsausgleich mit der Außenlösung (Abb. 3). Die Plasmolysegrade der geschüttelten Zellen liegen ohne Überschneidung *dauernd* höher als die

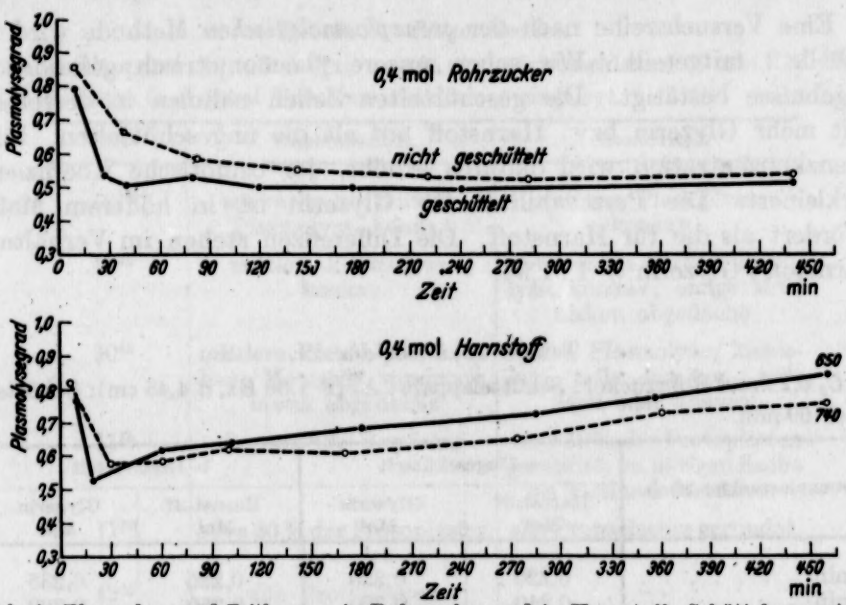


Abb. 4. Plasmolysegrad-Zeitkurven in Rohrzucker und in Harnstoff. Schüttelapparat A_1''. Schütteldauer bei Rohrzucker 40, bei Harnstoff 30 min. Osmotischer Wert bei Rohrzucker 0,21 mol Traubenzucker, bei Harnstoff 0,23 mol Traubenzucker.

der ungeschüttelten und bringen damit nur noch die Förderung der Glyzerinpermeabilität, nicht mehr die sonst im Anfangsteil der Kurven sichtbare Erhöhung der Wasserpermeabilität zum Ausdruck. Da die letztere aber auch hier zweifellos vorhanden ist, ist die Glyzerinpermeabilität in Wirklichkeit noch wesentlich mehr gefördert als aus den Kurven der Abb. 3 hervorgeht.

δ) *Harnstoffpermeabilität. Harnstoff* permeiert in die Zellen von *Rhoeo* langsamer als Traubenzucker und fast so langsam wie Rohrzucker.

Die Plasmolyse verläuft im Prinzip wie in den Traubenzuckerlösungen (Abb. 4). Um den gesamten Plasmolyse- und Deplasmolyseverlauf verfolgen zu können, müssen die Schnitte sehr lange dem Plasmolytikum ausgesetzt werden. Es ist wahrscheinlich, daß dabei das natürliche Permeabilitätsverhalten beträchtlich geändert wird, weshalb den Ergebnissen dieser Versuche keine allzu große Bedeutung beizumessen ist. Dessenungeachtet konnten wir in der Mehrzahl der Fälle in den

geschüttelten Zellen einen deutlich früheren Eintritt völliger Deplasmolyse feststellen als in den ungeschüttelten, *was auf eine erhöhte Harnstoffpermeabilität schließen läßt.* Die am Ende der Kurven von Abb. 4 angegebenen Zahlen bedeuten die Zeiten, nach denen der Plasmolysegrad 1 erreicht ist. Sie betragen für die geschüttelten Zellen 650 min, für die ungeschüttelten 740 min.

2. Grenzplasmolytische Methode nach FITTING.

Eine Versuchsreihe nach der *grenzplasmolytischen* Methode wird in Tabelle 2 mitgeteilt. Wir sehen unsere plasmometrisch gefundenen Ergebnisse bestätigt. Die geschüttelten Zellen nehmen in derselben Zeit mehr Glyzerin bzw. Harnstoff auf als die ungeschüttelten. Ihre Grenzkonzentration wird dadurch erhöht, der osmotische Koeffizient verkleinert. Die Permeabilität für Glyzerin ist in höherem Maße gefördert als die für Harnstoff. Die Differenzen stehen im Verhältnis Harnstoff : Glyzerin = 1 : 1,94.

Tabelle 2. *Rhoeo discolor.*

C_z 0,22 mol Rohrzucker; Schüttelapparat A_1' (F 1,66 Hz, a 4,45 cm); Schüttelddauer 60 min.

Grenzplasmolyse nach	a Ungeschüttelt		b Geschüttelt	
	Harnstoff Mol	Glyzerin Mol	Harnstoff Mol	Glyzerin Mol
30 min	0,220	0,230	0,225	0,235
60 min	0,240	0,260	0,250	0,280
90 min	0,250	0,300	0,260	0,330
Aufgenommene Menge während 60 min . .	0,030	0,070	0,035	0,095
$\frac{C_z}{C_p}$ nach 90 min . . .	$\frac{0,22}{0,25} = 0,88$	$\frac{0,22}{0,30} = 0,733$	$\frac{0,22}{0,26} = 0,845$	$\frac{0,22}{0,33} = 0,665$

II. Viskosität.

a) Versuchsobjekte und Methode.

Auf eine Schüttelbeeinflussung der Plasmaviskosität kann schon aus der vollkommeneren und rascheren Abrundung der Protoplasten bei den Permeabilitätsversuchen geschlossen werden. Zur Bestätigung dienten besondere Versuchsreihen nach der *Plasmolyseform-* (WEBER 1924) und der *Plasmolysezeit*-Methode (WEBER 1929). Zur Plasmolyse wurden nur Lösungen von Traubenzucker und Harnstoff verwendet, da Glyzerin als leicht permeierende Verbindung die Abrundung zu stark fördert. Die Änderungen der Protoplastenform und -größe während des Plasmolyseverlaufes wurden mikroskopisch verfolgt.

b) Ergebnisse.

Tabelle 3 gibt einen dieser Plasmolyseform- und -zeitversuche in 0,4 mol Traubenzucker. Die Bezeichnungen „schwache", „mittlere" und „starke" Plasmolyse beziehen sich auf die jeweilige Volumkontraktion des Protoplasten, die bei den geschüttelten Zellen infolge erhöhter Wasserpermeabilität zu einem bestimmten Zeitpunkt stets stärker ist als bei den ungeschüttelten.

Tabelle 3. *Rhoeo discolor.*

Schüttelapparat A_I'' (F 4 Hz, a 4,45 cm); Schütteldauer 30 min. 10 Uhr: Beide Schnitte in 0,4 mol Traubenzuckerlösung eingelegt.

Zeit	Ungeschüttelt	Geschüttelt
10^{15}	schwache bis mittlere Plasmolyse, konkav	mittlere Plasmolyse, konkav
10^{30}	mittlere Plasmolyse, konkav	mittlere bis starke Plasmolyse, konkav; einige Menisken abgeflacht
10^{45}	mittlere Plasmolyse, konkav; Menisken vereinzelt etwas abgeflacht	starke Plasmolyse; Menisken teils konkav, teils flach oder konvex
11^{15}	beginnende Rundung	über 50% der Protoplasten gerundet, im übrigen flache bis konkave Menisken
11^{30}	etwa 50% der Protoplasten gerundet	alle Protoplasten gerundet
12^{15}	alle Protoplasten gerundet	—
Plasmolysezeit	135 min	90 min

Als Schütteleffekt ergibt sich eine *Erniedrigung der Viskosität.* Die Plasmolyse*zeit*, d. h. die Zeit vom Einlegen in das Plasmolytikum bis zur völligen Rundung des Protoplasten, weist in allen Fällen deutliche Unterschiede zwischen geschüttelt und ungeschüttelt auf, während die Beurteilung nach der Plasmolyse*form* bisweilen schwieriger ist. Wir sehen die Ursache darin, daß einerseits die ungeschüttelten Zellen als die langsamer plasmolysierenden „besser Zeit haben, sich schon in früheren Stadien der plasmolytischen Kontraktion abzurunden" (Huber und Höfler), und daß andererseits bei den geschüttelten Protoplasten durch den sehr raschen und oft einseitigen Wasserentzug die Erreichung konvexer Plasmolyseformen etwas verzögert wird.

Das Zusammengehen von Permeabilitätserhöhung und Viskositätserniedrigung, für das in der Literatur mehrfach Beispiele vorliegen (Weber 1925, Höfler und Weber, Huber und Höfler, Bogen, Schmidt 1939, Härtel) läßt sich, wie wir später bei der allgemeinen

Diskussion zeigen werden, durch die Annahme plasmatischer Strukturänderungen erklären.

Der Befund struktureller Schüttelwirkungen legte es nahe, die Untersuchung auf Quellungsbeeinflussungen auszudehnen.

III. Quellung.

a) Versuchsobjekt und Methode.

α) Samen. Versuchsobjekt waren Samen von *Soja hispida*, Sorte Angern. 20 in der Apparatur A_2 geschüttelte und 20 ungeschüttelte lufttrockene Bohnen wurden einzeln gewogen und jede in ein Reagensglas gegeben, das zu etwa einem Drittel mit destilliertem Wasser gefüllt war. Um den Verlauf der Quellung zu untersuchen, erfolgte während 10 bis 15 Std anfangs jede Stunde, später alle 2 und schließlich alle 4 Std eine Wägung der vorher leicht mit Filtrierpapier abgetrockneten Samen auf der Balken-Torsionswaage.

Die Versuche wurden teils im Thermostaten bei einer konstanten Temperatur von 23° C, teils bei für beide Teilversuche gleichen Zimmertemperaturen zwischen 14 und 21° C durchgeführt.

Der Quellungszustand der Samen berechnet sich aus der Differenz zwischen dem jeweiligen Versuchsgewicht und dem Lufttrockengewicht, bezogen auf 100 g des Lufttrockengewichtes.

Quellungsversuche, bei denen die Samen auf feuchtes Filtrierpapier gelegt wurden, um die nach PRINGSHEIM (1931) bei Unterwasserquellung auftretende Atmungshemmung zu vermeiden, brachten bei ungewöhnlich starker Streuung der Einzelwerte keine Unterschiede zwischen ungeschüttelten und geschüttelten Bohnen. Offensichtlich wirkte bei dieser Versuchsanordnung die unvollständige und unbestimmte Berührung mit dem Wasser auf die Quellungsgeschwindigkeit begrenzend. Bei der Quellung in Petrischalen, in denen die Samen knapp mit Wasser bedeckt waren, erhielten wir die gleichen Ergebnisse wie mit völlig untergetauchten Samen.

Bald nach Beginn der Quellung fielen meist einige Bohnen durch sehr rasche Aufnahme und Ansammlung von Wasser unter der Samenschale auf, was nach PRINGSHEIM (1930) durch feine, makroskopisch nicht sichtbare Risse in der Samenschale hervorgerufen wird. Sie wurden von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen. Umgekehrt kann die „Hartschaligkeit" mancher Samen (PRINGSHEIM 1930) den Beginn der Wasseraufnahme hinauszögern und dadurch eine oft recht große Streuung der Anfangswerte bedingen. Die Gewichte *besonders* hartschaliger Bohnen sind in Tabelle 4 eingeklammert verzeichnet und bei der Berechnung der Mittelwerte nicht berücksichtigt.

β) Laubblätter. Blätter sind aus verschiedenen Gründen für Quellungsversuche schlecht geeignet. Die Blattepidermis setzt durch Ausscheidung wachsartiger Substanzen die Benetzbarkeit des Blattes mehr oder weniger weitgehend herab und zu der Gewichtszunahme durch Quellung kann eine solche durch Infiltration der Interzellularen hinzutreten. Auch erschwert die relativ zum Volumen große Oberflächenentwicklung der Blätter das rasche, sorgfältige Abtrocknen nach der

Quellung und führt durch sofort einsetzende Verdunstung leicht zu Ungenauigkeiten bei der Wägung. Da es jedoch erforderlich erschien, wenigstens qualitativ zu prüfen, ob die Ergebnisse an Samen auch für stärker wasserhaltige Gewebe Gültigkeit haben, wurden einige Versuche mit Blättern von *Rhoeo discolor*, *Taraxacum officinale* (Klonkultur) und Salat (Stuttgarter Sommer) durchgeführt.

Zwei, nach ihrer Stellung am Vegetationspunkt gleich alte Blätter, deren Schnittwunde mit Vaseline verklebt war, wurden gewogen und zur Anwelkung frei aufgehängt. Nach 30 min wurde das „Anwelkgewicht" bestimmt, das als Bezugsgröße für die Wasseraufnahme dient. Nun wurden die Blätter 10—20 min geschüttelt (Apparat A_2) bzw. ruhig stehen gelassen und schließlich in Wasser 30 min gequollen. Die Differenz zwischen Endgewicht und Anwelkgewicht, bezogen auf 1 mg Anwelkgewicht, ergibt das Maß für die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme.

b) Ergebnisse.

α) Samen. Die Quellungskurven der Sojabohnen unterscheiden sich von denen der meisten anderen Samen (Pringsheim 1930) dadurch, daß die Wasseraufnahme in den ersten 1—$1^1/_2$ Std sehr langsam und unter großer Streuung der Einzelwerte erfolgt. Erst dann steigt sie rasch an, um sich ganz allmählich gegen das Quellungsmaximum hin, das je nach der herrschenden Temperatur in 11—14 Std erreicht wird, zu verlangsamen.

Zur Erreichung eines Schütteleffektes muß die Schütteldauer mindestens 10 min betragen. Nach 1, 2 und 5 min langem Schütteln ist noch kein Unterschied festzustellen (Abb. 5a—c). Längeres Schütteln als 10 min (bis 45 min untersucht) vermag den Effekt nicht zu vergrößern. *Die Wirkung des Schüttelns äußerte sich in den zahlreichen Versuchsreihen stets in einer Quellungsförderung.* Ihr Ausmaß ist durch die in Abb. 5d und e dargestellten Extreme umgrenzt, zwischen denen die übrigen Fälle lagen. In Tabelle 4 sind Zahlenwerte zu Abb. 5d gegeben, welche zeigen, daß die Differenzen zwischen geschüttelten und ungeschüttelten Samen zur Zeit der Förderung gut gesichert sind. Diese liegt hauptsächlich zwischen $1^1/_2$ und 3 Std, wo die Kurve der geschüttelten Samen einen steileren Anstieg nimmt. Gegen das Quellungsmaximum zu verlangsamt sich die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme in zunehmendem Maße, so daß sich die beiden Kurven nach beendeter Quellung schließlich treffen. Daß die Menge des von den ungeschüttelten und den geschüttelten Samen aufgenommenen Wassers gleich groß ist, die gesamte Quellungskapazität durch das Schütteln also nicht geändert erscheint, könnte auch eine Folge des wieder abgeklungenen Schüttelreizes sein. Wir sind zur experimentellen Entscheidung dieser Frage

Tabelle 4. *Soja hispida.*

Quellung in Prozenten des Anfangsgewichtes; Temperatur 23° C (Thermostat); Schüttelapparat A_2 (F 16 Hz, a 0,8 cm); Schütteldauer 20 min.

	a Ungeschüttelt					b Geschüttelt				
	Quellung nach Minuten					Quellung nach Minuten				
	91	180	245	382	631	91	180	245	451	631
	2,33	12,60	45,3	78,0	106,5	3,28	44,6	58,5	86,4	103,0
	7,35	4,20	51,8	120,0	106,5	35,30	75,5	82,0	106,0	122,5
	1,43	2,39	19,6	56,5	87,5	1,25	13,4	35,8	71,7	92,6
	0,96	(0,96)	(2,9)	44,2	83,5	1,03	3,1	30,9	77,0	98,0
	1,72	2,15	34,8	63,8	93,1	1,98	25,8	44,2	74,4	94,3
	1,24	13,20	34,7	62,8	87,3	1,48	30,2	50,7	85,3	104,0
	2,94	29,40	45,6	74,5	101,0	8,06	50,5	66,6	96,1	115,0
	0,92	5,96	20,6	59,1	88,1	1,88	50,7	63,7	89,7	106,0
	1,26	2,10	17,1	47,0	79,0	10,30	78,1	89,6	108,5	118,5
	0,94	14,70	40,3	69,0	99,0	66,50	87,5	46,4	116,0	125,5
	0,47	4,10	25,6	66,0	100,0	35,60	61,9	78,5	106,0	117,0
	0,40	14,50	40,3	67,7	94,3	1,82	31,4	53,6	86,5	107,0
	0,86	41,20	53,2	93,5	103,0	1,59	35,2	52,3	85,1	106,0
	1,05	5,25	30,5	64,7	100,0	0,56	14,6	43,1	78,7	101,0
	4,20	45,70	63,6	93,6	115,0	79,10	103,7	113,0	121,0	124,0
	0,82	5,77	30,8	63,6	92,0	71,60	85,7	96,0	121,0	123,5
	2,02	24,20	48,3	72,1	98,5	0,49	(1,0)	19,6	68,3	89,3
	1,85	16,20	40,7	70,3	97,5	70;90	86,8	103,0	121,0	122,0
	54,90	66,30	81,1	96,3	114,0	51,10	71,0	84,2	104,5	117,0
	1,48	8,36	36,0	66,5	96,3					
Mittelwert	4,41	16,79	39,9	71,46	97,1	23,3	52,7	63,8	94,7	110,0
Mittlerer Fehler	±2,95	±4,02	±3,61	±3,01	±2,11	±6,8	±7,06	±5,92	±4,07	±2,68
Differenz der Mittelwerte geschüttelt — ungeschüttelten						18,89 ±7,4	35,91 ±8,12	23,9 ±6,93	23,24 ±3,95	12,9 ±3,42
In Prozent der ungeschüttelten						429	214	60	24	18

Tabelle 5. *Taraxacum officinale, Rhoeo discolor, Salat.*

Quellung je Milligramm Anwelkgewicht; Schüttelapparat A_2 (F 16 Hz, a 0,8 cm); Schütteldauer 10—20 min.

Objekt	Vorbehandlung	Frischgewicht mg	Anwelkgewicht mg	Endgewicht mg	Welkungsverlust je mg Frischgewicht nach 30 min	Quellung je mg Anwelkgewicht nach 30 min	Förderung in Prozent der ungeschüttelten
Taraxacum	geschüttelt	430	353	552	0,179	0,564	64
	ungeschüttelt	448	398	535	0,111	0,344	
Taraxacum	geschüttelt	624	513	818	0,178	0,593	70
	ungeschüttelt	653	548	739	0,161	0,348	
Rhoeo	geschüttelt	350	311	486	0,111	0,563	37
	ungeschüttelt	398	301	425	0,243	0,412	
Salat	geschüttelt	371	263	404	0,291	0,535	25
	ungeschüttelt	322	246	351	0,236	0,427	

wegen der Totalzerstörung unserer Apparaturen durch Fliegerangriff nicht mehr gekommen.

β) Laubblätter. Einige Versuche mit Blättern von *Rhoeo*, *Taraxacum* und Salat sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Sie zeigen grundsätzlich dasselbe wie die Untersuchung der Samen, nämlich *eine Förderung der Quellfähigkeit durch das Schütteln*, die von Objekt zu Objekt quantitativ

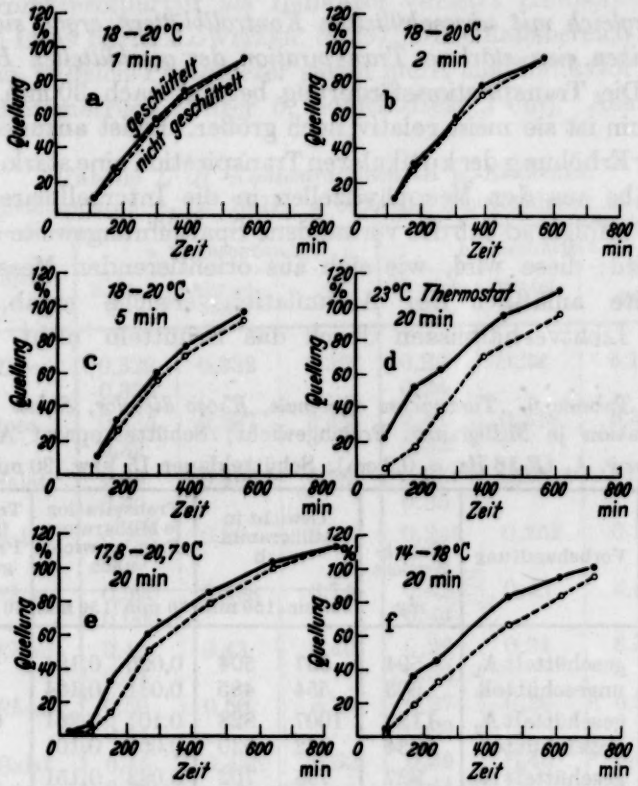


Abb. 5a—f. Quellungsverlauf bei Sojabohnen bei verschiedener Temperatur und Schüttel-dauer. Quellung in Prozenten des Lufttrockengewichtes. Schüttelapparat A_1.

verschieden ist, größenordnungsmäßig aber übereinstimmt. Die Endgewichte der gequollenen Blätter liegen erheblich über den Anfangsgewichten, da die im Pflanzenverband befindlichen Blätter stets unter einem Wasserdefizit stehen (Stocker 1929). Inwieweit sie bereits die volle Quellungskapazität zum Ausdruck bringen, wurde nicht weiter untersucht.

IV. Transpiration.

a) Versuchsobjekt und Methode.

Die Kulturen von *Rhoeo discolor*, *Taraxacum officinale* und Salat dienten auch als Versuchsobjekte zur Untersuchung der Schüttelwirkung auf die Transpiration. Gleich alte, frisch abgeschnittene Blätter, deren

Stiele mit Vaseline abgedichtet waren, wurden nach 15—30 min Schüttelbewegung auf Apparat A_2 bzw. A_1'' oder gleich langer Ruhe rasch auf der Balken-Torsionswaage gewogen und dann im Laboratorium frei aufgehängt. Ihre Gewichtsabnahme wurde in Abständen von 30 und 150 min verfolgt und auf 1 mg Frischgewicht berechnet.

b) Ergebnisse.

Im Vergleich mit ungeschüttelten Kontrollblättern ergab sich in allen Versuchsreihen eine stärkere Transpiration der geschüttelten Blätter (Tabelle 6). Die Transpirationsförderung beträgt nach 30 min 15—68%, nach 150 min ist sie meist relativ noch größer. Es ist anzunehmen, daß außer einer Erhöhung der kutikularen Transpiration eine stärkere Wasserdampfabgabe aus den Mesophyllzellen in die Interzellularen und die Atemhöhle erfolgt, so daß die vorhandene Spaltöffnungsweite besser ausgenutzt wird; diese wird, wie sich aus orientierenden Messungen der Spaltenweite anläßlich der Assimilationsversuche ergab, bei den gewählten Lichtverhältnissen durch das Schütteln nicht verändert.

Tabelle 6. *Taraxacum officinale, Rhoeo discolor, Salat.*
Transpiration je Milligramm Frischgewicht; Schüttelapparat A_1'' (*F* 4 Hz, *a* 4,45 cm) bzw. A_2 (*F* 16 Hz, *a* 0,8 cm); Schütteldauer 15 bzw. 30 min.

Objekt	Vorbehandlung	Frischgewicht	Gewicht in Milligramm nach		Transpiration je Milligramm Frischgewicht nach		Transpirationsförderung in Prozent der ungeschüttelten	
		mg	30 min	150 min	30 min	150 min	30 min	150 min
Taraxacum	geschüttelt A_1	594	537	504	0,096	0,184	19	12
	ungeschüttelt	603	554	485	0,081	0,164		
Taraxacum	geschüttelt A_2	1120	1007	828	0,101	0,261	68	160
	ungeschüttelt	1034	972	930	0,060	0,101		
Taraxacum	geschüttelt A_1	827	755	702	0,083	0,151	15	20
	ungeschüttelt	836	778	731	0,072	0,126		
Rhoeo	geschüttelt A_2	945	921	861	0,025	0,091	47	117
	ungeschüttelt	863	848	827	0,017	0,042		
Salat	geschüttelt A_1	517	434	384	0,162	0,252	32	33
	ungeschüttelt	478	419	387	0,123	0,190		

V. Wasserstoffionenkonzentration.

Über die große Empfindlichkeit hochmolekularer Proteine gegenüber p_H-Änderungen, insbesondere über den inneren Zusammenhang zwischen p_H, Permeabilität, Viskosität und Quellung liegen in der Literatur zahlreiche Untersuchungen vor (SAKAMURA und TSUNG-LÊ LOO, PRÀT 1926, WERTHEIMER, ILJIN, NIETHAMMER, KACZMAREK, PEKAREK, BOGEN, MOSEBACH, BÜNNING 1935, 1941/42). Wir wenden uns daher der Frage nach einer Schüttelbeeinflussung der *Wasserstoffionenkonzentration* von Blattextrakten zu.

a) Versuchsobjekt und Methode.

Zur p_H-Messung wurden die Längshälften von *Rhoeo discolor*- und Salatblättern auf der Apparatur A_2 20 min geschüttelt, bzw. in Ruhe gelassen. Sodann wurde 1 g geschüttelte oder ungeschüttelte Blattsubstanz unter allmählicher Zugabe von 25 cm³ destillierten Wassers sehr fein zerrieben und filtriert. Je 5 cm³ des Filtrates wurden mit 0,1 cm³ Bromkresolpurpur als Indikator versetzt (Indikatorliste nach Clark und Lubs bei Mislowitzer, S. 297; Umschlagsbereich: p_H 5,2 bis 6,8) und im Pulfrich-Photometer gegen nicht mit Indikator versetzten Extrakt photometriert (Filter 5, Schichtdicke 1 cm). Aus der abge-

Tabelle 7. *H'-Konzentrationen in* p_H*-Einheiten.*
Schüttelapparat A_2 (*F* 16 Hz, *a* 0,8 cm); Schütteldauer 20 min.

Datum (1943)	Objekt	a Ungeschüttelt			b Geschüttelt			Differenz a—b
		Extinktion	Mittelwert	p_H	Extinktion	Mittelwert	p_H	p_H-Einheiten
27. 7.	*Rhoeo*	0,329 0,335	0,332	6,36	0,22 0,24	0,23	6,11	+0,25
27. 7.	*Rhoeo*	0,385 0,39	0,387	6,44	0,31 0,325	0,318	6,33	+0,11
29. 7.	Salat	0,49 0,50	0,495	6,58	0,35 0,35	0,35	6,38	+0,20
31. 7.	Salat	0,28 0,30	0,29	6,27	0,245 0,26	0,252	6,19	+0,08
31. 7.	*Rhoeo*	0,595 0,600	0,598	6,74	0,42 0,44	0,43	6,48	+0,26
2. 8.	*Rhoeo*	0,42 0,44	0,43	6,49	0,29 0,32	0,31	6,31	+0,18
2. 8.	*Rhoeo*	0,59 0,61	0,60	6,75	0,27 0,29	0,28	6,25	+0,50
7. 8.	Salat	0,45 0,46	0,455	6,52	0,39 0,41	0,40	6,45	+0,07
7. 8.	Salat	0,46 0,48	0,47	6,54	0,34 0,37	0,355	6,39	+0,15
7. 8.	Salat	0,32 0,34	0,33	6,35	0,18 0,20	0,19	5,97	+0,38
7. 8.	Salat	0,42 0,44	0,43	6,48	0,26 0,265	0,263	6,21	+0,27
7. 8.	Salat	0,345 0,33	0,337	6,36	0,21 0,23	0,22	6,07	+0,29
7. 8.	Salat	0,315 0,34	0,328	6,34	0,265 0,26	0,263	6,21	+0,13
10. 8.	Salat	0,48 0,49	0,485	6,56	0,38 0,37	0,375	6,42	+0,14
10. 8.	Salat	0,53 0,54	0,535	6,63	0,47 0,48	0,475	6,55	+0,08

Mittel aller Versuche { *Rhoeo* + Salat +0,21, ±0,0313
Salat. . . . +0,18, ±0,0318

lesenen Extinktion ergab sich der p_H-Wert mit Hilfe von Eichkurven, die aus Pufferlösungen von bekannter H'-Konzentration (Phosphatpuffer nach SÖRENSEN bei MISLOWITZER, S. 304) gewonnen wurden.

Die so erhaltenen Wasserstoffionenkonzentrationen haben nur Vergleichswert. Sie stellen als Preßsaftmessungen, wie KEISSNER und MOSEBACH ausführen, keine genau definierten Werte dar. Nach den Erfahrungen MOSEBACHS reicht auch das Pufferungsvermögen der Preßsäfte meist nicht aus, um das p_H bei größerer Verdünnung auf seiner ursprünglichen Höhe zu halten. Um festzustellen, inwieweit in unserem Falle die beiden ungeschüttelten Blatthälften übereinstimmende p_H-Werte liefern, wurden 15 Messungen ausgewertet. Die Differenzen der als a und b bezeichneten Hälften waren in etwa gleicher Anzahl positiv und negativ und hoben sich im Mittel mit $-0{,}0007 \pm 0{,}0102$ praktisch auf.

b) Ergebnisse.

Beim Vergleich ungeschüttelter und geschüttelter Blatthälften ergab sich in allen Versuchen als *Schütteleffekt eine p_H-Verschiebung nach der sauren Seite* (Tabelle 7). Die Differenz hat stets gleiches Vorzeichen und liegt außerhalb der 3 σ-Fehlergrenze. Sie beträgt für 10 Versuchsreihen mit Salat $0{,}18 \pm 0{,}032$ p_H-Einheiten; 5 weitere Versuche mit *Rhoeo discolor* liefern gleiche Ergebnisse. Für beide Arten zusammengefaßt beträgt die durch das Schütteln bewirkte Ansäuerung des Preßsaftes $0{,}21 \pm 0{,}031$ p_H-Einheiten.

Da sich eine Erhöhung der H'-Konzentration nur an sofort verarbeiteten Preßsäften nachweisen ließ, nach längerem Stehen und schwachem Kochen aber zurückging, ist zu vermuten, daß die Ansäuerung in der Hauptsache durch erhöhte Produktion von Kohlendioxyd zustande kommt, das beim Kochen entweicht (MOSEBACH). Damit werden wir auf einen Zusammenhang mit der *Atmung* hingewiesen, deren Beeinflussung durch das Schütteln im folgenden Abschnitt untersucht werden soll.

VI. Atmung.

a) Versuchsobjekt und Methode.

Die Atmungsbestimmungen beziehen sich auf abgeschnittene Blätter der Salatsorten „Wunder von Stuttgart" und „Stuttgarter Sommer". Die Versuchspflanzen wurden in den Monaten August bis November im Gewächshaus bei Bodenwassergehalten von 80%, 50% und 25% der Wasserkapazität auf Komposterde kultiviert. Die Versuche begannen jeweils etwa 4 Wochen nach der Aussaat und erstreckten sich über 2 Monate. Für jeden Teilversuch wurden gleich alte Blätter verwendet, und zwar entweder das 4. und 5. oder das 5. und 6. Blatt eines Wirtels, vom Vegetationspunkt aus gezählt.

Die Atmung wurde in ruhender Luft im Dunkelversuch gemessen (vgl. BOYSEN JENSEN 1928). Als Rezipienten dienten Erlenmeyerkolben von 200 cm^3 Inhalt, in welche die beiden an einer Schnur befestigten Versuchsblätter so hineingehängt wurden, daß ihre gesamte Oberfläche freilag. Die Behälter wurden dann mit einem

eingefetteten Gummistopfen verschlossen, wobei die Schnur zwischen Stopfen und Gefäßwand eingeklemmt und nach außen geführt wurde. Durch den Stopfen liefen (Abb. 6) ein fast bis zum Boden des Kolbens reichendes ausgezogenes Glasrohr *g* mit einer Gummimanschette *m* und ein mit Natronkalk gefülltes Trockenröhrchen *t*. Die so vorbereiteten Rezipienten wurden mit 1 Liter CO_2-freier Luft durchspült. Nach rascher Wegnahme von *t* und Verschluß beider Öffnungen durch Glasstöpsel wurden die Gefäße 30 min lang unter einem verdunkelten Glassturz in Ruhe stehen gelassen, bzw. in schwarzes Papier eingeschlagen und auf der Apparatur A_3 geschüttelt. In einem leeren Kolben wurde gleichzeitig die Versuchstemperatur abgelesen; sie lag in den Versuchsreihen zwischen 14 und 19° C und schwankte für die beiden Teilversuche nur innerhalb eines Grades.

Nach 30 min wurden sofort aus einer mit einer Vorratsflasche verbundenen Bürette mit automatischer Nulleinstellung durch *m* (Abb. 6) 10 cm³ etwa n/25 Barytlauge, die mit $BaCl_2$ und Phenolphtalein versetzt war, eingefüllt. Durch vorsichtiges Umschwenken wurde die Hauptmenge des ausgeatmeten CO_2 rasch absorbiert und dann der Faden mit den Blättern während eines kurzen Öffnens des Stopfens herausgezogen. Um die Absorption zu vervollständigen, blieben die Gefäße anschließend noch 10 min unter öfterem Umschütteln stehen. Die Titration erfolgte mit n/40 HCl. Die Differenz der hierbei und bei der Blindtitration verbrauchten Salzsäuremenge wurde in Milligramm CO_2 umgerechnet (1 cm³ n/40 HCl ist äquivalent 0,55 mg CO_2) und auf 1 g Frischgewicht, bzw. 1 g Trockengewicht und 1 Std bezogen. Der Titrierfehler überstieg nicht 0,02 cm³ HCl.

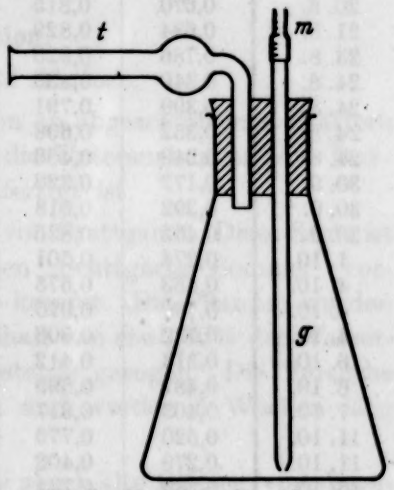


Abb. 6. Rezipient für Atmungsversuche (vgl. Text).

Um die erreichbare Gesamtgenauigkeit der Methode festzustellen, wurden 17 Versuchsreihen mit je zwei gleich alten ungeschüttelten Blättern a und b durchgeführt. Die Differenzen b—a der Einzelwerte betrugen im Mittel 0,021 ± 0,013 mg CO_2 je Gramm Frischgewicht mal Stunde bzw. 0,31 ± 0,122 mg CO_2 je Gramm Trockengewicht mal Stunde, weichen also von Null praktisch nicht ab.

b) Ergebnisse.

Die an ungeschüttelten Blättern gefundenen Atmungsintensitäten stimmen mit den bei Lundegårdh (1924a, S. 61), Boysen Jensen (1939, S. 159) und Stocker (1935) angegebenen größenordnungsmäßig überein. Wir beziehen sie auf Frisch- und Trockengewicht. Ein gesicherter Schütteleffekt trat von einer Schütteldauer von mindestens 15 min ab auf. Die Ergebnisse zahlreicher solcher Vergleichsversuche zwischen ungeschüttelten und geschüttelten Blättern sind in Tabelle 8 zusammengestellt.

Da die Einzelmessungen an verschiedenen Tagen und zu verschiedenen Tageszeiten vorgenommen wurden, ist die Höhe der Atmungsförderung dem physiologischen Zustand der Versuchspflanzen entsprechend sehr verschieden; es kommen Unterschiede zwischen 20 und 300%

Tabelle 8. *Salat.*

Atemwerte in Milligramm CO_2 je Gramm Frischgewicht und Stunde bzw. in Milligramm CO_2 je Gramm Trockengewicht und Stunde; Bodenwassergehalt 80% der Kapazität; Schüttelapparat A_2 (*F* 16 Hz, *A* 0,8 cm); Schütteldauer 20 min.

Datum (1943)	a Ungeschüttelt	b Geschüttelt	a Ungeschüttelt	b Geschüttelt	Diff./g F · h	Diff./g T · h
	mg CO_2/g F · h		mg CO_2/g T · h			
19. 8.	0,267	0,385	3,07	4,18	+0,118	+1,11
19. 8.	0,235	0,347	2,63	4,32	+0,112	+1,69
20. 8.	0,670	0,815	6,67	8,19	+0,145	+1,52
21. 8.	0,684	0,829	6,83	8,30	+0,145	+1,47
23. 8.	0,786	0,925	6,83	7,95	+0,139	+1,12
24. 8.	0,340	0,435	3,53	4,35	+0,095	+0,82
24. 8.	0,399	0,791	3,88	8,20	+0,392	+4,32
24. 8.	0,352	0,698	3,82	7,18	+0,346	+3,36
24. 8.	0,349	0,466	3,26	4,66	+0,117	+1,40
30. 9.	0,172	0,326	2,88	5,48	+0,154	+2,60
30. 9.	0,392	0,618	5,03	8,04	+0,226	+3,01
30. 9.	0,462	0,825	6,40	11,00	+0,363	+4,60
1. 10.	0,274	0,501	4,89	8,80	+0,227	+3,91
4. 10.	0,453	0,675	7,61	11,30	+0,222	+3,69
4. 10.	0,730	0,975	12,40	16,00	+0,245	+3,60
4. 10.	0,730	0,803	12,40	13,50	+0,073	+1,10
6. 10.	0,313	0,412	5,24	7,33	+0,099	+2,09
6. 10.	0,487	0,599	5,72	6,30	+0,112	+0,58
7. 10.	0,403	0,817	5,04	8,93	+0,414	+3,89
11. 10.	0,520	0,776	5,35	7,71	+0,256	+2,36
11. 10.	0,279	0,402	3,36	4,63	+0,123	+1,27
15. 10.	0,285	0,731	3,59	8,90	+0,446	+5,31
15. 10.	0,235	0,442	2,79	4,93	+0,207	+2,14
15. 10.	0,515	0,731	7,79	8,90	+0,216	+1,11
15. 10.	0,735	0,975	8,10	10,80	+0,240	+2,70
15. 10.	0,260	0,803	3,05	6,86	+0,543	+3,81
15. 10.	0,324	1,120	2,32	10,30	+0,796	+7,98
16. 10.	0,546	0,845	5,43	9,13	+0,299	+3,70
16. 10.	0,359	0,591	3,58	5,31	+0,232	+1,73
16. 10.	0,615	1,150	5,11	13,10	+0,535	+7,99
26. 10.	0,660	0,864	8,00	9,95	+0,204	+1,95
26. 10.	0,700	0,909	9,75	12,90	+0,209	+3,15
26. 10.	0,590	1,050	8,75	16,90	+0,460	+8,15
26. 10.	0,286	0,434	4,53	7,16	+0,148	+2,63
28. 10.	0,274	0,458	3,96	6,10	+0,184	+2,14
28. 10.	0,310	0,780	8,73	12,80	+0,470	+4,07
29. 10.	0,770	1,010	10,70	13,50	+0,240	+2,80
4. 11.	0,276	0,860	4,52	12,80	+0,584	+8,28
4. 11.	0,419	0,739	6,40	11,80	+0,320	+5,40
4. 11.	0,452	0,643	6,55	9,20	+0,191	+2,65
22. 11.	0,217	0,386	3,12	5,32	+0,169	+2,20
22. 11.	0,258	0,358	3,28	4,40	+0,100	+1,12
22. 11.	0,323	0,488	4,55	6,15	+0,165	+1,10
26. 11.	0,193	0,713	4,86	10,80	+0,520	+5,94
26. 11.	0,357	0,498	6,03	8,00	+0,141	+1,97
26. 11.	0,511	0,782	5,11	9,83	+0,271	+4,72
26. 11.	0,324	0,557	5,34	8,82	+0,233	+3,48
Mittelwert	0,427	0,688	5,59	8,74	+0,261	+3,14
			mittlerer Fehler		±0,023	±0,30

der normalen Atmung vor. *Sämtliche Versuche ergeben aber sowohl bei Bezug auf Frisch- als auch auf Trockengewicht als Schütteleffekt eine Atmungssteigerung, die im Mittel etwa 60% der normalen Atmung ausmacht.* Die Differenzen geschüttelt minus ungeschüttelt betragen im Mittel 0,261 $\pm$ 0,023 mg CO_2 je Gramm Frischgewicht mal Stunde bzw. 3,14 $\pm$ 0,30 mg CO_2 je Gramm Trockengewicht mal Stunde. Sie sind somit reichlich gesichert, auch wenn man sie mit den oben mitgeteilten Differenzen ungeschüttelter Kontrollversuche vergleicht.

VII. Assimilation.

a) Versuchsobjekt und Methode.

Die *Assimilationsbestimmungen* wurden an abgeschnittenen Blättern durchgeführt, deren Verwendung durch die Untersuchungen von Boysen Jensen (1939) und Bauer gerechtfertigt ist.

Versuchspflanze war Salat, „Wunder von Stuttgart". Diese Sorte ist der bei der Atmung zum Teil verwendeten „Stuttgarter Sommer" vorzuziehen, da sie erst sehr spät zur Blüte kommt. Die Pflanzen wurden von Mai bis Juli bei optimalem Wassergehalt von etwa 80% der Wasserkapazität im Gewächshaus auf Komposterde gezogen. Die Versuche begannen an 8 Wochen alten Pflanzen und wurden 6 Wochen lang fortgesetzt.

Es kamen für einen Versuch stets zwei gleich alte Blätter (vom Vegetationspunkt des Wirtels aus gezählt) zur Verwendung, von denen das eine 15 min auf Apparat A_2 geschüttelt wurde. Anschließend erfolgte die Assimilationsbestimmung in strömender Luft von normalem CO_2-Gehalt und unter optimaler künstlicher Beleuchtung.

Als Apparatur verwendeten wir mit geringfügigen Änderungen die bei Stocker (1942, S. 51) abgebildete und beschriebene. Ihr Prinzip ist folgendes (vgl. auch Boysen Jensen 1933/34): Mittels Saugflaschen wird synchron durch zwei parallele Leitungen atmosphärische Luft gesaugt. In einem Zweig geht der Luftstrom durch eine Cuvette mit dem Versuchsblatt und dann durch ein Absorptionsrohr mit Barytlauge. Im zweiten Zweig wird die atmosphärische Luft unmittelbar durch Barytlauge geleitet. Aus der Titrationsdifferenz berechnet sich die bei der Assimilation durch das Blatt verbrauchte Menge CO_2. Es wurde etwa n/50 $Ba(OH)_2$ mit 0,5 g $BaCl_2$ je Liter verwendet, die mit Phenolphtalein und zur Schaumbildung mit 0,2% n-Butylalkohol versetzt war. Titriert wurde mit n/40 HCl.

Um in den beiden Zügen Luft mit genau gleichem CO_2-Gehalt zu haben, wurde sie durch ein gemeinsames, aus dem Fenster geleitetes Rohr aus der freien Atmosphäre in etwa 12 m Höhe angesaugt und dann durch ein Dreiwegerohr in die beiden Zweige verteilt. Vor jedem Versuch wurde die Apparatur 2—3 min mit Luft vorgespült und das Blatt vorbeleuchtet. Die Durchströmungsgeschwindigkeit der Assimilationsluft betrug 3 Liter in 14—26 min. Dabei erfolgte, wie in Vorversuchen geprüft wurde, in den verwendeten Absorptionsröhren (50 cm lang, 2 cm weit, Verteilung der Luft durch ein Glasfrittfilter am unteren Ende der Röhre) völlige Absorption des Kohlendioxydes. Das Blatt wurde in eine in einem Wasserbad

hängende Cuvette nach LUNDEGÅRDH (1924b) so eingeschlossen, daß die Blattunterseite gegen die Luftzuführungsröhre lag. Es wurde darauf geachtet, daß auch zwischen der Blattoberseite, die bei Salat Spaltöffnungen trägt, und der Cuvettenwand noch Raum für einen ungehinderten Gasaustausch blieb. Da zwischen ungeschüttelten und geschüttelten Blättern Unterschiede in der Permeabilität und der Quellungsfähigkeit bestehen, sahen wir davon ab, die Stiele der abgeschnittenen Blätter in Wasser tauchen zu lassen, um nicht durch verschieden starke Sättigung mit Wasser, die außerdem in diesem Maße in der Natur nie vorkommt (STOCKER 1935), die versuchsbedingten Unterschiede zu verwischen. Beleuchtet wurde die Blattoberseite mit einer 1000-Watt-Lampe in 18 cm Entfernung. Die Temperatur in der Cuvette betrug in den Versuchsreihen 19—26° C; sie ließ sich während eines Versuches durch verschieden starken Durchfluß im Wasserbad annähernd konstant halten. Nach jedem Versuch wurden die beiden Saugflaschen durch das Auslaufrohr frisch mit Wasser gefüllt. Die dabei verdrängte, in der Hauptmenge bereits CO_2-freie Luft wurde durch Natronlauge und Natronkalk geleitet und zur Durchspülung der Titrierkolben verwendet, die durch Aufsetzen eines Natronkalkrohres das Einfüllen und Titrieren der Lauge ohne Zutritt atmosphärischer Kohlensäure erlaubten (vgl. Abb. 6). Eine Umrechnung des durchgesaugten Luftvolumens auf 0° und 1 Atm. Druck erübrigte sich, da wir nur Vergleichswerte anstreben.

Die Titrierdifferenz wurde in Milligramm CO_2 umgerechnet und auf 1 dm^2 einseitige Blattfläche und 1 Std bezogen. Aus der Differenz zwischen Blindtitration und Luftanalyse berechnet sich der CO_2-Gehalt der verwendeten Luft zu 0,50— 0,60 mg je Liter = 0,025—0,030 Vol.-% (vgl. LUNDEGÅRDH 1924, S. 8 und 9).

Die analytische Übereinstimmung des „Assimilations-" (A) und des „Luftzweiges" (L) geht aus gleichzeitigen Luftanalysen in beiden Zügen hervor. Die Differenz $A—L$ ergab sich zu $-0{,}013 \pm 0{,}011$ cm^3 n/40 HCl je 3 Liter Luft = 0,00715 mg CO_2 je 3 Liter Luft. Die analytische Genauigkeit der Apparatur ist also sehr befriedigend und übertrifft diejenige der Gasometerglocken von LUNDEGÅRDH (1924a, S. 11), für welche er, bezogen auf die in normaler Luft enthaltene CO_2-Menge, $\pm$ 1% angibt. Die physiologische Brauchbarkeit der Methode wird durch die gute Übereinstimmung der Assimilationswerte von Blättern, die unmittelbar nach dem ersten Versuch einer zweiten Bestimmung unterworfen wurden (Tabelle 9) bewiesen. Erst bei einer Gesamtversuchsdauer von etwa 50 min, bei der die Blätter nach der zweiten Analyse schon merklich schlaff waren, trat ein Rückgang der Assimilationsintensität ein. In den Fällen kürzerer Dauer, wie sie in den Versuchen der Tabelle 10 vorlagen, ist die Abweichung der beiden Bestimmungen nur 1—5%.

Tabelle 9. *Salat.*

Vorbehandlung	Versuchsdauer *einer* Bestimmung	Assimilation in mg $Co_2/dm^2 \cdot h$		Abweichung der 2. Bestimmung in Prozent der 1. Bestimmung
		1. Bestimmung	2. Bestimmung	
Ungeschüttelt .	18	3,74	3,70	— 1
Ungeschüttelt .	26	10,40	8,20	—21
Geschüttelt . .	19,5	3,98	3,28	— 2
Ungeschüttelt .	24	11,80	7,55	—36
Geschüttelt . .	16	3,07	3,16	+ 3
Ungeschüttelt .	15	8,56	8,12	— 5
Geschüttelt . .	17	5,38	5,22	— 3

b) Ergebnisse.

Die vergleichenden Versuche *ergaben in allen Fällen als Schütteleffekt eine sehr erhebliche Hemmung der Photosynthese.* Der CO_2-Verbrauch ist um durchschnittlich 3,49 $\pm$ 0,266 mg je dm² mal Stunde, d. h. um 52% der normalen Assimilation herabgemindert (Tabelle 10).

Tabelle 10. *Salat.*

Assimilationsüberschuß in Milligramm CO_2 je dm² und Stunde; Schüttelapparat A_2 (*F* 16 Hz, *a* 0,8 cm); Schütteldauer 15 min.

Datum (1944)	a Ungeschüttelt			b Geschüttelt			Differenz b—a	Assimilationshemmung in Prozent ungeschüttelt
	Assimilation mg CO_2 je dm² · h	Versuchsdauer min	Temperatur ° C	Assimilation mg CO_2 je dm² · h	Versuchsdauer min	Temperatur ° C		
25. 5.	3,89	19,5	23—25	0,72	18,5	22—22,5	—3,17	82
16. 5.	6,23	17,5	22—23	1,01	21,5	22—23	—5,22	84
15. 5.	3,74	18,0	24,5—25	0,73	23,5	22—23	—3,01	80
15. 5.	7,55	16,5	23—24	5,38	15,0	23,5—24,5	—2,17	29
27. 5.	11,80	18,5	23—23,5	6,92	18,0	22—23	—4,88	41
30. 5.	12,70	19,0	21—22	6,15	18,5	22—24	—6,55	52
1. 6.	10,78	19,0	22—25	7,55	19,0	24—25	—3,23	30
2. 6.	13,20	26,0	23—25	8,55	23,0	24,5—25	—4,65	35
2. 6.	10,03	24,0	25—25,5	7,60	26,0	24—25	—2,43	24
2. 6.	4,01	20,0	24—25	1,52	19,5	23,5—25	—2,49	62
3. 6.	5,63	25,5	24—26	3,07	24,5	24—25	—2,56	45
3. 6.	7,28	20,0	23—25	3,16	18,0	23—25,5	—4,12	57
30. 5.	8,20	18,5	21—23	5,35	17,5	22—23	—2,85	35
19. 5.	4,18	14,5	19—20	2,04	15,0	19,5—20,5	—2,14	51
1. 6.	6,60	14,0	21,5—22	2,88	14,0	21,5—22	—3,72	56
26. 5.	3,28	16,5	20—20,5	0,81	16,0	20—20,5	—2,47	75
1. 6.	3,89	19,5	19—21	0,78	19,0	19—20	—3,11	80
3. 6.	8,20	20,0	22—23	4,32	18,0	22—23	—3,88	47
3. 6.	10,40	15,5	21—21,5	5,35	16,0	21,5—22	—5,05	49
3. 6.	7,31	18,5	20—21	5,22	19,0	20—21,5	—2,09	29
Mittelwert	7,45			3,96			—3,49	52
Mittlerer Fehler .							$\pm$0,266	

Um die sog. *wahre* Assimilation, d. h. den aus Luft und Atmungskohlensäure herstammenden photosynthetischen Gesamteffekt zu erhalten, rechnen wir die in den Atmungsversuchsreihen erhaltenen Werte (Tabelle 8) auf die Flächeneinheit von 1 dm² um, nachdem an 20 Blättern der Quotient $\frac{\text{Fläche}}{\text{Frischgewicht}}$ zu im Mittel 0,515 $\pm$ 0,027 bestimmt wurde. Wir erhalten so die Tabelle 11.

Tabelle 11. *Salat.*

Wahre Assimilation bei etwa 20° C.

Vorbehandlung	Atmung		Assimilationsüberschuß	Wahre Assimilation
	mg CO_2/g F · h	mg CO_2/dm² · h	mg CO_2/dm² · h	mg CO_2/dm² · h
Ungeschüttelt .	0,427	0,830	7,45	8,280
Geschüttelt . .	0,688	1,335	3,96	5,295

Danach *besteht der Schütteleffekt auch bei der wahren Assimilation*; sie ist bei geschüttelten gegenüber ungeschüttelten Blättern um etwa 36% gehemmt. *Die absolute Menge des bei der Assimilation weniger verbrauchten CO_2 ist also wesentlich größer als die Menge des bei der Atmung mehr ausgeschiedenen.* Der Quotient $\frac{\text{Assimilation}}{\text{Atmung}}$, welcher ein Maß für die Energiebilanz der Pflanze ist (vgl. STOCKER 1935), wird durch das Schütteln von 10 auf etwa 4 erniedrigt.

Um dem Einfluß der *Spaltöffnungsweite* nachzugehen, führten wir einige Bestimmungen nach der Kollodiumhäutchenmethode (KLEIN) durch. Sie zeigten in den meisten Fällen bei mittlerem Öffnungsgrad keine Beeinflussung der Spaltenweite durch das Schütteln. Eine Ausnahme bildeten die sehr weit offenen Spalten von längere Zeit mit der 1000-Watt-Lampe beleuchteten Blättern, bei denen das Schütteln zu einer geringen Verengung der Spalten führte. Es muß also die in unseren Versuchen beobachtete Assimilationsverminderung zum größten Teil nicht auf Spaltenbewegungen, sondern auf intrazelluläre Faktoren zurückgehen.

D. Versuch einer Theorie des Schütteleffektes.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß mechanische Schüttelbewegungen von genügender Frequenz, Amplitude und Dauer einen sehr weitgehenden Einfluß auf Struktur und Funktion des pflanzlichen Plasmas haben. Wir stellten fest: Erhöhung der Permeabilität für Wasser, Traubenzucker, Glyzerin und Harnstoff, Erniedrigung der Viskosität, Förderung der Quellungsgeschwindigkeit, Steigerung der Transpiration, Erniedrigung des p_H-Wertes im Blattextrakt, Erhöhung der Atmung und Hemmung der Assimilation. Es ist von vornherein wahrscheinlich, daß dieser ganze Erscheinungskomplex auf eine schüttelbedingte Änderung der Plasmastruktur zurückgeht. Dafür eine zusammenfassende Theorie zu geben, soll nun unsere Aufgabe sein.

Nach FREY-WYSSLING stellt das Zytoplasmaeiweiß ein lockeres Gefüge von Polypeptidketten hohen Polymerisationsgrades dar, deren Peptidgruppen (KÜNTZEL 1944) und Seitenketten durch elektrostatische sowie Neben- und Hauptvalenzkräfte sehr verschiedener Stärke zu „Haftpunkten" verbunden sind. Der fortwährende Auf- und Abbau dieser verschiedenartigen Bindungen verleiht dem lebenden Plasma seine ungewöhnlich hohe Reaktionsfähigkeit und chemische Labilität.

Ähnlich wie bei einigen leblosen Gelen (FREUNDLICH und ABRAMSON, FREUNDLICH und BIRCUMSHAW, LEPESCHKIN 1935, GÄUMANN und JAAG) läßt sich auch beim Zytoplasma durch mechanische Behandlung eine „vorübergehende Entstabilisierung" von Haftpunkten erreichen (FREY WYSSLING, S. 141), wodurch es reversibel verflüssigt wird.

Wir sind also berechtigt, als *primären Schütteleffekt* ein *Aufreißen von Haftpunkten* geringerer Bindungskräfte anzunehmen. Dabei behält natürlich das Zytoplasma als Ganzes seine Struktur bei und löst sich nicht etwa, wie GÄUMANN und JAAG und GÄUMANN annehmen, in einzelne „Mizellen" auf, die dann selbständig in den Zellsaft übertreten. Eine solche Zerstörung der für die Lebenstätigkeit unbedingt notwendigen *Struktur* würde jedenfalls eine irreversible Schädigung und schließlich den Tod der betreffenden Gewebe zur Folge haben.

Durch die Lösung von Haftpunkten wird nach unserer Vorstellung das *fibrilläre Eiweißnetz gelockert und in seinen Maschen an vielen Stellen aufgeweitet.* Die größere Beweglichkeit der Gerüstfäden bedingt eine *Erniedrigung der Plasmaviskosität* (vgl. NORTHEN und DUSPIVA bei NORD-WEIDENHAGEN, S. 128), die wir unserer Meßmethode entsprechend im wesentlichen als „Strukturviskosität" eines mehr oder weniger starren Gerüstes aufzufassen haben (SCHMIDT, DIWALD und STOCKER). Die *Permeabilität*, die im Sinne der *Ultrafiltertheorie* in erster Linie von der Porenweite des Eiweißgerüstes abhängt, wird durch die Ausweitung und Aufreißung der Gerüstmaschen *erhöht.* Die verschieden starke Förderung der Harnstoff- und Glyzerinpermeabilität läßt jedoch vermuten, daß auch die *lipoide Phase* durch das Schütteln eine Änderung erfährt. Wir sind geneigt anzunehmen, daß ein Teil der durch Solvatation gebundenen Lipoide stärker zerteilt oder freigesetzt wird und deshalb andere Durchlässigkeiten für Harnstoff und Glyzerin bedingt; H. SCHMIDT (1939, S. 39) zieht in einem ähnlich gelagerten Fall der Dürreresistenz die Vorstellung von COLLANDER und von HÖFLER in Erwägung, daß sich der chemische Charakter der Lipoide von der sauren nach der basischen Seite verschiebt, wodurch eine Förderung der Alkohol- gegenüber der Amidpermeabilität entstehen soll (vgl. SCHMIDT, DIWALD und STOCKER, S. 588).

Als dritte durch Schütteln bewirkte Zustandsänderung des Plasmas beobachteten wir eine *Änderung der Quellfähigkeit.* Das Zytoplasmaeiweiß stellt, da seine Molekülketten untereinander vernetzt sind, ein begrenzt quellbares Kolloid dar. Derartig gebaute Systeme quellen nach STAUDINGER und KÜNTZEL (bei KUHN, S. 349) um so schneller und stärker, je weniger zahlreich die Brücken zwischen den linearen Kolloidteilchen sind. Durch das Aufreißen von Querverbindungen entstehen einmal zusätzlich ionisierte polare Gruppen, die Ansatzstellen für dipolmäßig festgehaltene Wassermoleküle bilden und damit den Quellungsvorgang in seinen ersten Stadien beschleunigen; zum anderen werden die kapillaren Zwischenräume zwar nicht im ganzen vergrößert — das Plasmavolumen der Zelle bleibt ja unverändert — aber durch den Wegfall zahlreicher Trennungsbrücken zwischen benachbarten Räumen kanalartig erweitert, so daß sie dem Wasserdurchgang geringeren

Widerstand entgegensetzen. Das in der Hauptsache kapillare Quellungswasser des zweiten Stadiums kann infolgedessen schneller eindringen und den gerade für diese Phase ausgeprägten Schütteleffekt einer schnelleren Quellung bewirken. Soweit die Nachgiebigkeit der Zellwand es erlaubt, wird als Folge der Gerüstlockerung auch das Ausmaß der Quellung nach Schütteln ein größeres sein. Wir sehen diesen Fall verwirklicht bei den Quellungsversuchen mit Blättern, wo die bei Versuchsbeginn entspannt-angewelkten Zellen durch die großen Interzellularen bessere Ausdehnungsmöglichkeit haben. Bei quellenden Samen dagegen ist die Volumvergrößerung des dichten interzellularenarmen Gewebes stärker eingeschränkt. Dabei muß offen bleiben, in welchem Maße ein während der längeren Versuchsdauer bereits erfolgtes Abklingen des Schütteleffektes für das gleiche Endgewicht der ungeschüttelten und geschüttelten Samen in unseren Versuchsreihen verantwortlich ist.

Mit den unmittelbaren durch Schütteln bewirkten Strukturänderungen des Zytoplasmas geht, wie unsere Versuche zeigen, die *Beeinflussung physiologischer Prozesse* Hand in Hand, zu deren Besprechung wir nun übergehen.

Am einfachsten liegen die Verhältnisse bei der *Transpiration*. Wie für die Quellung der Eintritt von Wasser in und durch das Eiweißgerüst durch dessen Auflockerung und teilweise Zerreißung gefördert wird, muß für die Transpiration der Austritt erleichtert sein und, sofern die Wasserpermeabilität des Plasmas ein begrenzender Faktor ist, eine *Erhöhung* derselben bewirken. Unsere Untersuchungen unterstützen diese bereits von GÄUMANN und JAAG entwickelte Ansicht. Einer Auflockerung der *Zellwand*struktur, die im Sinne der Transpirationsstromtheorie von STRUGGER von Bedeutung wäre, messen diese Autoren eine höchstens untergeordnete Bedeutung bei. Sie dürfte auch mechanisch stärkere Kräfte als eine Lockerung des Plasmagerüstes beanspruchen; doch haben wir uns mit dieser Frage nicht befaßt.

Die Schüttelbeeinflussung der Atmung und Assimilation weist auf einen unmittelbaren Zusammenhang zwischen physikalischen Strukturänderungen des Plasmas und *Enzymtätigkeit* hin.

Nach den heutigen Vorstellungen liegen die Enzymkomplexe in der Zelle als zusammenhängende kolloidale Systeme vor, deren reagierende Komponenten durch den Feinbau des Protoplasmas räumlich getrennt und in bestimmten Strukturen lokalisiert sind (HÖBER, DUSPIVA bei NORD-WEIDENHAGEN, S. 13). *Der Zustand der Zellstruktur ist daher für Atmung und Assimilation von grundlegender Bedeutung* (HÖBER, VAN DER PAAUW, LUBIMENKO und STSCHEGLOVA, BÖYSEN JENSEN 1939, BÜNNING 1939, BUKATSCH). Auch die Aktivierung der Enzyme durch Änderung der $H^{\cdot}$-Konzentration ist meist eine Folge des in erster Linie veränderten physiologischen Zustandes der Plasmakolloide (BÜNNING

1939, S. 11). Für den Enzymkomplex der Hydrolasen im besonderen wird bei normaler Lebenstätigkeit in Abhängigkeit von äußeren und inneren Faktoren ein Pendeln zwischen Zuständen erhöhter Hydrolysefähigkeit und erhöhter Synthesefähigkeit angenommen. Nach OPARIN und BÜNNING (1939, 1941/42) hängt die jeweilige Lage des Schwerpunktes eng mit der Festigkeit der Enzymverankerung an bestimmten Plasmastrukturen zusammen, und zwar katalysiert das freie Enzym die Hydrolyse und das adsorptiv gebundene die Synthese.

Da in unserem Falle die *Atmungsintensität gesteigert* und die *Assimilation gehemmt* ist, überwiegt im Sinne der Vorstellungen von SYSAKYAN und KOBYAKOVA die abbauende Fähigkeit der Enzyme. Sie sind also in einem freien oder wenig gebundenen Zustand anzunehmen. Die Vorstellung, daß eine solche Freisetzung von Enzymen ein notwendiger Teilvorgang der allgemeinen Lockerung und teilweisen Zerreißung des Eiweißgerüstes beim Schütteln ist, liegt sehr nahe und ist beinahe zwangsläufig. Wir haben damit den Rahmen einer Erklärung für die Atmungserhöhung einerseits und die Hemmung der Assimilation andererseits gewonnen.

Aus der Atmungssteigerung ergibt sich, im Licht noch gefördert durch die Assimilationserniedrigung, eine *Erhöhung des CO_2-Gehaltes* in der Zelle, die wir für die beobachtete p_H-*Senkung im Blattextrakt* verantwortlich machen können. Möglicherweise wird durch die gesteigerten Oxydationsvorgänge, wie COLLA (zitiert nach DRAWERT) findet, neben der Wasserstoffionenkonzentration auch das Redoxpotential erhöht. Die Erniedrigung des p_H in Zellsaft und Plasma bedingt eine Zurückdrängung der Abdissoziation von H-Ionen an den sauren Gruppen des festen Eiweißgerüstes und damit eine *Verminderung seiner negativen Überschußladung*. Die Abschwächung der Gerüstaufladung hat eine *Entspannung des gesamten Plasmagefüges* zur Folge. Die vorher infolge stärkerer elektrostatischer Abstoßung und höherer Eigenladung gestrafften und gestreckten Gerüstfäden beginnen sich zu verkürzen und zu falten und bilden ein dichteres Maschenwerk (vgl. SCHMIDT, DIWALD und STOCKER). Aus der *Verengung des Netzwerkes* ergibt sich zunächst eine *Wiederherabsetzung der Permeabilität und der Quellung* und eine *Erhöhung der Viskosität. Damit beginnt ein der Schüttelwirkung entgegenlaufender Prozeß, der die Änderungen der Plasmastruktur allmählich wieder rückgängig macht und schließlich den normalen Zustand des Eiweißgerüstes restituiert.* Mit der Wiederherstellung der ursprünglichen Strukturverhältnisse wird aber auch die Voraussetzung für eine Wiederanlagerung der enzymatischen Komplexe geschaffen, wodurch das Hydrolasensystem wieder in die aufbauende Richtung gelenkt wird.

Leider war es bei unserer Versuchsanordnung nicht möglich, die *Geschwindigkeit des Abklingens* der Schüttelwirkung zu ermitteln, da die

zum Versuch abgeschnittenen Blätter vor der Zeit welk wurden. An geschüttelten *Rhoeo*-Blättern, die in einer wenig feuchten Kammer aufbewahrt wurden, war nach 10—12 Std keine Permeabilitätserhöhung mehr feststellbar. Da der Vorgang der Wiederherstellung jedoch allmählich verläuft, können wir mit unseren Methoden den Zeitpunkt der endgültigen Restitution nicht bestimmen und damit lediglich zeigen, daß die Schüttelwirkung überhaupt reversibler Natur ist.

Die geschilderten Vorgänge beim Eintritt und beim Abklingen des Schütteleffektes lassen sich im *größeren Rahmen der Reizphysiologie* betrachten. Hier ist in mehr oder weniger starkem Maße bei allen Reizvorgängen eine Erhöhung der Permeabilität zu beobachten [HÖBER, S. 556, BÜNNING 1931, AMLONG und BÜNNING, COLLA (zitiert nach DRAWERT), DRAWERT]. Die damit gegebene Herabsetzung der Reaktionswiderstände führt nach BÜNNING (1939, S. 13) zu einer Zerstörung arbeitsfähiger Potentiale und im Zusammenhang damit zur Negativierung gereizter Zonen (DRAWERT). Vermehrung der CO_2-Ausscheidung und Ansäuerung der Zwischenflüssigkeit infolge gesteigerter Atmung führen dann zu einer Abschwächung der negativen Überschußladung des Gerüstes, was nach DRAWERT gleichbedeutend ist mit der Wiederherstellung des normalen elektrischen Ruhepotentials, das durch den Aktionsstrom aufgehoben worden war. Die Atmungssteigerung führt also zur Restitution der ursprünglichen Reizbarkeit und zur Neuschaffung oder Erhaltung des lebensnotwendigen Feinbaues der Plasmastrukturen (DRAWERT, BÜNNING 1939).

Wir wollen nun an einigen Beispielen zeigen, daß sich das von anderen Autoren an pflanzlichen und tierischen Organismen verschiedenster systematischer Stellung gewonnene Beobachtungsmaterial über mechanische Beeinflussung physiologischer Prozesse in die von uns entwickelten Vorstellungen einordnen läßt.

Am zahlreichsten sind die Beobachtungen einer thixotropen Herabsetzung der Plasma*viskosität*. So findet ANGERER durch Erschütterungen, BROWN und MARSLAND durch Anwendung hoher hydrostatischer Drucke eine Viskositätsabnahme des Plasmas von *Amoeba dubia* und *Amoeba proteus*. Zu den gleichen Ergebnissen gelangen G. und F. WEBER beim Schütteln von *Phaseolus*-Keimlingen („geoviskosischer" Effekt). Nach FITTING (1925) ruft schon das Hin- und Herreiben mit einem Glasstab oder dem Finger auf Zellen von *Vallisneria* eine Verstärkung der Plasmaströmung hervor, die wohl gleichfalls auf einer Viskositätsverminderung beruht. PÉTERFI und KAPEL und PÉTERFI und OLIVO finden eine reversible Verflüssigung des Plasmas von Nerven- und Blutzellen durch Berührung und Anstich mit der Mikronadel. Eine Erhöhung der *Permeabilität* erfahren nach JANSE (zitiert nach COULT)

junge Wurzeln von *Helianthus annuus*, die mit nassen Fingern gerieben werden, so daß Zellsaft aus den Protoplasten in die Interzellularen austritt. ALBACH (1929) beobachtet nach mechanischer Behandlung eine raschere Anfärbung von Zwiebelschuppen. Laubblätter von *Prunus Laurocerasus* antworten nach ANDUS auf starkes Verbiegen mit einer Steigerung der *Atmung*. Es wird ein direkter Einfluß auf das System des oxydativen Kohlenhydratabbaues durch Aktivierung der beteiligten Enzyme oder des Sauerstoffs vermutet. JUNTARO findet mit der SCHMIDTMANNschen Methode des Einführens von Indikatorkörnchen an Zupfpräparaten von quergestreiften und Herzmuskeln nach 20—30 min eine *Ansäuerung* um etwa 0,3 p_H-Einheiten, was er auf den mechanischen Reiz des Zerzupfens zurückführt. Auch das *Zentrifugieren* bleibt nach ANDREWS und KÜSTER (1939) nicht ohne *Einfluß auf die Plasmastruktur*. Die dabei auftretenden Viskositäts- und sonstigen Änderungen führt KÜSTER auf eine Störung der Feinstruktur des Plasmas im Sinne der Haftpunkttheorie von FREY-WYSSLING zurück. Zu erwähnen sind ferner die Arbeiten von MATHEWS und WHITCHER und COULT über *Wachstumsbeeinflussung*. MATHEWS und WHITCHER beobachteten, daß Seesterneier schon durch äußerst geringe mechanische Reize (Erschütterungen) zur Parthenogenese angeregt werden. Ähnlich reagieren gewisse Polychäten(Amphitrite)- und Seeigeleier. Die Empfindlichkeit gegenüber mechanischer Beeinflussung ist vor und nach der Befruchtung und bei verschiedenen Temperaturen verschieden. COULT arbeitet mit keimenden Senfsamen und findet außer einer durch Permeabilitätserhöhung zu erklärenden Förderung der Wasseraufnahme eine Beschleunigung des *Keimwurzelwachstums* geschüttelter Samen. Nicht zutreffen dürfte die Annahme, daß der geringe Verlust an Trockengewicht bei den unter Schütteln gekeimten Samen durch Herabsetzung der Atmung, bzw. Erhöhung der Assimilation zustande kommen soll. Schließlich sind in diesem Zusammenhang die Untersuchungen von G. SCHMIDT zu erwähnen, der nach Behandlung mit Ultraschall ein Zerreißen von Neben- und sogar Hauptvalenzbindungen des plasmatischen Eiweißgerüstes feststellen konnte.

Unsere Untersuchungen verfolgten den Zweck, eine *physiologische* Grundlage des Schütteleffektes zu geben. Man wird aber nun auch die Frage nach der *ökologischen* Bedeutung dieser Erscheinungen stellen. In bezug auf die *Transpiration* bieten hier die Arbeiten von GÄUMANN und JAAG einen wichtigen Ansatz, indem sie überzeugend zeigen, daß die Windwirkung in entscheidender Weise von dem Schütteleffekt abhängig ist. Unsere Ergebnisse legen es nahe, nunmehr auch die ökologische Tragweite der Atmungs- und Assimilationsbeeinflussung experimentell zu prüfen.

Zusammenfassung.

Das Schütteln von Laubblättern und Samen verschiedener Pflanzen auf den in Abschnitt B beschriebenen Apparaten hat auf die Struktur und die Funktion des Plasmas entscheidenden Einfluß. Wir fassen unsere Ergebnisse in folgenden Punkten zusammen:

1. Der Schütteleffekt äußert sich zunächst in einer direkten Wirkung auf die Plasmastruktur. Ähnlich wie dies für eine Reihe lebloser Gele bekannt ist, werden durch das Schütteln zahlreiche Haftpunkte des plasmatischen Eiweißgerüstes zerrissen und die Maschen des Netzwerkes aufgeweitet. Als Folge davon beobachteten wir Permeabilitätserhöhung *(Rhoeo discolor)*, Viskositätserniedrigung *(Rhoeo discolor)*, Quellungsförderung (Samen von *Soja hispida* und Laubblätter von *Rhoeo discolor*, *Taraxacum officinale* und Salat) und Transpirationssteigerung (*Rhoeo discolor*, *Taraxacum officinale* und Salat).

2. Die primäre Änderung der Plasmastruktur hat eine teilweise Freisetzung des bei Atmung und Assimilation beteiligten Enzymkomplexes der Hydrolasen aus der adsorptiven Bindung an das Plasma zur Folge, wodurch ihre Katalysefähigkeit in die Richtung überwiegenden Abbaus gelenkt wird. Wir beobachteten eine starke Steigerung der Atmung (Salat) und eine starke Hemmung der Assimilation (Salat), wodurch eine Anhäufung von CO_2 in Zellsaft und Plasma und eine Verschiebung der H-Konzentration in Richtung des isoelektrischen Punktes bewirkt wird. (Salat, *Rhoeo discolor*). Durch Erniedrigung des p_H wird die Abdissoziation der H-Ionen an den sauren Gruppen des Eiweißgerüstes zurückgedrängt und seine negative Überschußladung herabgesetzt. Damit beginnt ein dem Schütteleffekt entgegengesetzter Vorgang der Wiederherstellung der ursprünglichen Strukturverhältnisse; denn die Ladungsverminderung bedeutet ein Entspannen des Gerüstes und somit eine Wiederherabsetzung der Permeabilität und Quellfähigkeit und eine Wiedererhöhung der Viskosität.

3. Mit der Resynthese des anfänglichen Strukturzustandes wird die Wiederanlagerung der Enzymkomplexe an bestimmte Plasmastrukturen begünstigt, so daß die Atmung nachläßt und die Assimilation ansteigt, das ursprüngliche Verhältnis $\frac{\text{Assimilation}}{\text{Atmung}}$ also wieder hergestellt wird.

4. Die Vorgänge beim Eintritt und beim Rückgang des Schütteleffektes lassen sich unter allgemein reizphysiologischen Gesichtspunkten betrachten.

5. Das Schütteln hat als Windwirkung auf die pflanzliche Transpiration weitgehende ökologische Bedeutung. Es eröffnet sich die Frage, inwieweit auch die schüttelbedingten Atmungs- und Assimilationsänderungen von ökologischer Tragweite sind.

Literatur.

ALBACH, W.: Protoplasma (Berl.) **5** (1929); **12** (1931). — AMLONG, H. U., u. E. BÜNNING: Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 445 (1934). — ANDREWS, F. M.: Jb. Bot. **56**, 221 (1915). — ANDUS, L. I.: New Phytologist **39**, 65 (1940). — ANGERER, C. A.: J. cellul. a. comp. Physiol. 8 (1936). — BÄRLUND, H.: Acta bot. Fenn. **5**, 1 (1929). — BAUER, P.: Planta (Berl.) **24**, 446 (1935). — BOGEN, H. I.: Planta (Berl.) **28**, 535 (1938). — BOYSEN JENSEN, P.: Planta (Berl.) **6**, 456 (1928); **21**, 368 (1933/34). — Die Elemente der Pflanzenphysiologie. Jena 1939. — BRAUNER, L.: Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum, Teil 2. Jena 1932. — BROWN, E. S. DUGALD, MARSLAND and A. DOUGLAS: J. cellul. a. comp. Physiol. 8 (1936). — BÜNNING, E.: Planta (Berl.) **12** (1931). — Ber. dtsch. bot. Ges. **53**, 594 (1935). — Die Physiologie des Wachstums und der Bewegungen. Berlin 1939. — Z. Bot. **37**, 433 (1941/42). — BUKATSCH, F.: Neuere Ansichten über die Photosynthese. Sitzgsber. Ges. Morph. u. Physiol. Münch. **50** (1941). — CHOLODNY, N.: Biochem. Z. **147/48**, 22 (1924). — COLLA, S.: Protoplasma (Berl.) **21**, 1 (1934). — COLLANDER, R., u. H. BÄRLUND: Comm. Biol. Soc. Sci. Fenn. **2**, 9 (1926). — COULT, D. A.: Protoplasma (Berl.) **32**, 92 (1938). — DRAWERT, H.: Planta (Berl.) **26**, 391 (1937). — DUSPIVA, F.: In E. F. NORD und R. WEIDENHAGEN, Handbuch der Enzymologie, Bd. I, S. 10. Leipzig 1940. — EL DERRY, B. H.: Protoplasma (Berl.) **8**, 1 (1930). — FITTING, H.: Jb. Bot. **56**, 1 (1915); **59**, 1 (1920); **64**, (1925). — FREUNDLICH, H., u. ABRAMSON: Über die Thixotropie von Gelatinelösungen. Z. physik. Chem. **131** (1927/28). — FREUNDLICH, H., u. L. B. BIRCUMSHAW: Kolloid-Z. **40**, 19 (1926). — FREY-WYSSLING, A.: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate, Protoplasma-Monographien. Bd. 15. Berlin 1938. — GÄUMANN, E.: Z. Bot. **38**, 225 (1942/43). — GÄUMANN, E., u. O. JAAG: Ber. schweiz. bot. Ges. **49**, 178, 555 (1939). — HÄRTEL, O.: Protoplasma (Berl.) **34** (1940). — HÖBER: Physikalische Chemie der Zellen und der Gewebe. 1926. — HÖFLER, K.: Ber. dtsch. bot. Ges. **36**, 414 (1918). — Jb. Bot. **73**, 300 (1930). — Protoplasma (Berl.) **12** (1931). — HÖFLER, K., u. F. WEBER: Jb. Bot. **65**, 643 (1926). — HUBER, B., u. K. HÖFLER: Jb. Bot. **73**, 351 (1930). — ILJIN, W. S.: Protoplasma (Berl.) **3**, 558 (1928). — JUNTARO, O.: Proc. imp. Acad. Tokyo **4** (1928). Ref. Protoplasma (Berl.) **6** (1929). — KACZMAREK: Protoplasma (Berl.) **7** (1929). — KAHO, F. E.: Beitrag zur Kenntnis der Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Cytol. Fujii-Jubiläumsband 1937. — KAMIYA, N.: Protoplasma (Berl.) **32**, 373 (1939). — KEISSNER, E.: Planta (Berl.) **12**, 575 (1931). — KLEIN, K.: Das Spaltöffnungsverhalten dürreresistenter und dürreempfindlicher Sorten landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Diss. Darmstadt 1944. — KÜNTZEL, A.: Die Quellung von Gelen. In A. KUHN, Kolloidchemisches Taschenbuch, S. 347. Leipzig 1944. — Physikalische Chemie und Kolloidchemie der Eiweißkörper unter besonderer Berücksichtigung des Kollagens. In W. GRASSMANNs Handbuch der Gerbereichemie und Lederfabrikation, Bd. I/1. Wien 1944. — KÜSTER, E.: Kolloid-Z. **89** (1939). — Protoplasma (Berl.) **36** (1942). — LEPESCHKIN, W. W.: Protoplasma (Berl.) **2** (1927); **24** (1935). LUBIMENKO, V. N., u. O. A. STSCHEGLOVA: Planta (Berl.) **18** (1932/33). — LUNDEGÅRDH, H.: Der Kreislauf der Kohlensäure in der Natur. Jena 1924a. — Biochem. Z. **154**, 195 (1924b). — Die Nährstoffaufnahme der Pflanze. Jena 1932. — MATHEWS, A. P., and B. R. WHITCHER: Amer. J. Physiol. 8 (1903). — MISLOWITZER, E.: Die Wasserstoffionenkonzentration, ihre Bedeutung für die Biologie und die Methoden ihrer Messung. Berlin 1922. — MOSEBACH, G.: Jb. Bot. **89**, 20 (1940/41). — NIETHAMMER, A.: Beitr. z. Biol. Pflanz. **16** (1928). — NORTHEN, H. T.: Plant Physiology **13**, 658 (1938). Ref. Protoplasma (Berl.) **32**, 327 (1939). — OPARIN: Enzymologie **4**, 13 (1937). — VAN DER PAAUW, F.: Rec. Trav. bot. Néerl. **29**, 497 (1932). Ref. Bot. Zbl. N. F. **23**, 202 (1933). — PEKAREK: Planta (Berl.) **21**, 419 (1933/34). —

PÉTERFI, T., u. O. KAPEL: Arch. exper. Zellforschg **5**, 341 (1928). — PÉTERFI, T., u. O. OLIVO: Arch. exper. Zellforschg **4**, 155 (1927). — PRÀT; S.: Biochem. Z. **128**, 557 (1922). — Kolloid-Z. **39/40**, 248 (1926). — PRINGSHEIM, E. G.: Planta (Berl.) **11**, 528 (1930); **15**, 419 (1931). — RUHLAND, W., u. C. HOFFMANN: Planta (Berl.) **1**, 1 (1925). — RUHLAND, W., H. ULLRICH u. S. ENDO: Planta (Berl.) **27**, 650 (1938). — SAKAMURA and TSUNG-LÊ LOO: Botanic. Mag. **39/40**, 61 (1925/26). — SCHMID, O.: Umschau Wiss. Techn. **48**, H. 2 (1944). — SCHMIDT, H.: Jb. Bot. **83**, 470 (1938). — Protoplasma (Berl.) **33**, 25 (1939). — SCHMIDT, H., K. DIWALD u. O. STOCKER: Planta (Berl.) **31**, 559 (1940). — STAUDINGER, H.: Organische Kolloidchemie. Braunschweig 1941. — STOCKER, O.: Planta (Berl.) **7**, 382 (1929); **24**, 402 (1935). — Pflanzenphysiologisches Praktikum. Jena 1942. — STRUGGER, S.: Z. Bot. **35**, 97 (1939/40). — SYSAKYAN u. KOBYAKOVA: Biochimia **5**, 301 (1940). — URSPRUNG, A., u. G. BLUM: ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. XI, Teil 4, H. 7. 1938. — WEBER, F.: Österr. bot. Z. **68/70** (1919/21); **73**, 261 (1924). — Jb. Bot. **64** (1925). — Protoplasma (Berl.) **5**, 622 (1929). — WEBER, G. u. F.: Jb. Bot. **57**, 129 (1917). — WEIS, A.: Planta (Berl.) **1** (1925). — WERTHEIMER, E.: Protoplasma (Berl.) **2** (1927).

Planta, Bd. 39, S. 377—401 (1951).

Aus dem Biologischen Laboratorium der Österreichischen Stickstoffwerke Aktiengesellschaft in Linz.

VERSUCHE ZUR CHROMATOGRAPHISCHEN TRENNUNG PFLANZLICHER WUCHSSTOFFE.

Von

HANS LINSER.

Mit 16 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Februar 1951.)

Seit der Entdeckung der beiden Auxine a und b (KÖGL 1931, 1933), die auch von späteren Autoren zwar nicht aus Pflanzen isoliert, aber doch in solchen indirekt nachgewiesen wurden (vgl. beispielsweise ROBORGH und THOMAS 1948, 1949), konnte auch das als zellstreckender Wuchsstoff wirksame Heteroauxin (Indol-3-essigsäure, KÖGL 1934) in verschiedenen Pflanzen, unter anderem in Mais und in Spinat, in wirksamer Form aufgefunden werden (LEFÈVRE 1938, 1939; HAAGEN-SMIT, LEECH und BERGREN 1942; BERGER und AVERY 1944; DANDLIKER 1945; GUTTENBERG und LEHLE-JOERGES 1947; WILDMAN und BONNER 1948). Ferner fand sich ein Wuchsstoff ohne Säurecharakter in höheren Pflanzen, der Indol-3-acetaldehyd (LARSEN 1944, 1947; WILDMAN und BONNER 1948), der wahrscheinlich ein Zwischenprodukt der fermentativen Bildung von Indol-3-essigsäure aus Tryptophan darstellt (GORDON und SANCHEZ-NIEVA 1949), die möglicherweise über Tryptamin bzw. über Indolbrenztraubensäure verläuft. Man hat danach also in der höheren Pflanze bereits mit vier verschiedenen, zellstreckend wirkenden Wuchsstoffen zu rechnen. Dazu kommt, daß ein neuerer Versuch, das Molekulargewicht des aus Sproßspitzen von Tomatenpflanzen diffundierenden zellstreckenden Wuchsstoffen auf Grund des Diffusionskoeffizienten zu bestimmen, ein Molekulargewicht von 201 bzw. 203 ± 6 ergab, einen Wert also, der zwischen jenem des Heteroauxins (175) und jenem der Auxine (310, 328) liegt (KRAMER und WENT 1949) und auf die Existenz eines Wuchsstoffes schließen läßt, der weder auxin- noch heteroauxinartiger Natur ist. Nachweis und Bestimmung der zellstreckenden Wuchsstoffe in der Pflanze werden noch dadurch kompliziert, daß festgestellt werden konnte, daß die Wuchsstoffe auch in (vorwiegend wohl an Eiweiß) gebundener, unwirksamer Form in der Pflanze vorkommen (BONNER und WILDMAN 1947), was auch für das Heteroauxin gilt (MOEWUS 1947, 1948), und daß sie durch fermentative Spaltung (KULESCHA 1948; WILDMAN und BONNER 1948) daraus in wirksame Form übergeführt werden können. Auf enzymatischem Wege wird auch im Verlauf einer

Extraktion von Pflanzenmaterial immer wieder neuer Wuchsstoff gebildet, wobei Tryptophan bzw. Eiweiß als Vorstufe anzusehen ist (WILDMAN und MUIR 1949). FUNKE und SÖDING (1948) glauben außerdem, daß gebundene Wuchsstoffe nicht einfach inaktiv sind, sondern im Gegenteil wuchsstoffantagonistische Wirkungen ausüben können (weshalb sie die Bezeichnung „Antiauxin" vorschlugen). Hierzu kommt die Vermutung von VELDSTRA und HAVINGA (1943/45), wonach das durch Einwirkung von Licht auf Auxon entstehende Lumiauxon, soweit man aus dessen Konstitution dies heute schließen kann, Hemmstoffwirkung zeigen soll. Das Vorhandensein von wuchsstoffantagonistischen „Hemmstoffen" in höheren Pflanzen wurde bereits durch Arbeiten von VOSS (1939) und LINSER (1940, 1948) sowie durch MOEWUS (1948) nachgewiesen, doch ist es bisher nicht gelungen, die chemische Natur dieser Hemmstoffe aufzuklären. Zwar erwies sich das in höheren Pflanzen häufig vorkommende Cumarin im Wuchsstofftest als ein Hemmstoff von mäßiger Wirksamkeit (MOEWUS 1948), doch zeigen Extrakte bestimmter Pflanzen, beispielsweise solche aus *Syringa vulgaris* (LINSER 1940, 1949) weit stärkere Hemmstoffwirkung als dieses, so daß nicht anzunehmen ist, daß es den alleinigen Hemmungsfaktor pflanzlicher Wuchsstoffe darstellt. Dies wäre um so weniger wahrscheinlich, als zahlreiche synthetisch zuzügliche Stoffe in den Wuchsstofftesten Hemmstoffwirksamkeit erkennen lassen.

Alle diese Ergebnisse machen die innerhalb einer Pflanze das Zellstreckungswachstum regulierenden Faktoren außerordentlich unübersichtlich und lassen erkennen, daß man es mit einer größeren Zahl verschiedenartiger Stoffe zu tun hat, welche, jeder für sich, von Einfluß auf das Endergebnis des Zellstreckungsvorganges sind. Dieses stellt sich schließlich als das resultierende Streckungswachstum dar, welches sich aus der Adsorptionskonkurrenz der verschiedenen vorliegenden Wirkstoffe an verschiedene Wirkungsstellen im lebenden System ergibt (LINSER 1951, KAINDL 1951). Es ist daher heute kaum möglich, anzugeben, welcherlei verschiedenartige Wuchs- nnd Hemmstoffe man in einer Pflanze zu erwarten hat. Zwar kann man mit der Gegenwart der Auxine a und b (deren Existenz allerdings nicht zweifelsfrei ist), des Heteroauxins und des Indol-3-acetaldehyds rechnen, sowie mit mindestens einem Hemmstoff (Wuchsstoffantagonisten), doch ist es wahrscheinlich, daß außer diesen Stoffen noch weitere Wirkstoffe vorliegen, die auf den gleichen Vorgang Einfluß ausüben und das Streckungswachstum der Pflanzen sowie die sonstigen, von Wuchsstoffen beeinflußten Funktionen mit gestalten. Es ist trotz mancher Versuche bisher noch nicht gelungen, eine Trennung der einzelnen, am Wuchsstoffphänomen beteiligten Stoffe auf chemischem oder physkalischem Wege zu erzielen. Zwar gibt die Zerstörbarkeit des Heteroauxins beim Kochen in saurem

Milieu und die Zerstörbarkeit der Auxine beim Kochen in alkalischer Lösung die Möglichkeit, diese beiden Stoffe nebeneinander nachzuweisen; doch verhindert die teilweise Zerstörung jeweils auch der anderen Komponente bei dieser rauhen chemischen Maßnahme deren quantitative Bestimmung nebeneinander. Auch die Abtrennung des neutralen Wuchsstoffes durch Ausschüttelungsverfahren führt zu keinen befriedigenden Ergebnissen, und da über die Natur der Hemmstoffe und eventuell vorhandener weiterer Wuchsstoffe keine Kenntnis vorliegt, unterliegt man bei der Prüfung pflanzlicher Wuchsstoffe stets der Gefahr, daß man es mit Gemischen mehrerer Komponenten zu tun hat und als Ergebnis die Resultierende aus deren Einzelwirkungen erhält, die natürlich je nach dem Mischungsverhältnis der verschiedenen Komponenten verschiedene Gestalt annimmt (Linser und Kaindl 1951). Tatsächlich erhält man bei der Wirksamkeitsprüfung pflanzlicher Extrakte mit den gebräuchlichen Wuchsstofftestmethoden (Went 1928, Linser 1938, Funke 1939, Moewus 1948b) immer wieder neue Bilder für die Abhängigkeit der Wuchsstoffwirkung von der Konzentration der geprüften Extrakte oder Diffusate. Dies ist zweifellos zum Teil bedingt durch die jahreszeitlichen (Linser 1950) und täglichen (Kögl, Haagen-Smit und v. Hullsen 1936) Schwankungen der Empfindlichkeit und des physiologischen Verhaltens der Testpflanzen, tritt jedoch auch bei gleichzeitigen Versuchen an gleichartigem Material in Erscheinung, so daß man die Verschiedenartigkeit der Ergebnisse mindestens zum Teil dadurch begründet sehen darf, daß man es mit einem Gemisch verschiedener Anteile verschiedener Wirkstoffe bei verschiedenen Pflanzen sowohl wie bei verschiedenen Organen der gleichen Pflanze oder zu verschiedenen Zeiten bei gleichen Organen zu tun hat. *In Anbetracht solcher Verhältnisse aber darf ein durch eine einfache Testung gefundener Wuchsstoffwert nicht einfach als Maßstab für den „Wuchsstoffgehalt" einer Pflanze betrachtet werden, wie dies leider immer wieder geschieht,* sondern er kann höchstens als der „aktuelle Wirkungswert" des betreffenden Gemisches von verschiedenen Stoffen aufgefaßt werden. Da jedoch wahrscheinlich verschiedene Pflanzen gegenüber den verschiedenen Komponenten eines Wirkstoffgemisches verschiedene Empfindlichkeit besitzen, kann der an einer bestimmten Testpflanze (beispielsweise *Avena*) gewonnene „aktuelle Wirkungswert" nicht ohne weiteres als für eine andere Pflanze (beispielsweise jene, aus welcher der geprüfte Extrakt gewonnen wurde) gültig betrachtet werden. Es darf ferner außerdem nicht vergessen werden, daß verschiedene Pflanzen außerordentlich hohe Wuchsstoffaktivitäten sowohl in ihren Extrakten wie auch in ihren Diffusaten erkennen lassen (Linser 1939, 1939a, 1948) und daß man daher bei Einzelbestimmungen auch dadurch zu Fehlschlüssen kommen kann, daß solche Werte oberhalb des Wirkungsmaximums liegen können und daher um Größenordnungen

falsch sein können. Auf diesen Umstand wurde bereits hingewiesen (LINSER 1939).

Die erwähnten Tatsachen haben bewirkt, daß das Studium der Rolle der Wuchsstoffe in der normalen Physiologie der Pflanze zu indirekten Methoden greifen mußte und bisher zu keinem befriedigenden Ergebnis geführt hat. Für eine weitere Erforschung der Physiologie der Wuchsstoffe in der Pflanze auf Grund analytischer Daten ist daher die Ausarbeitung von Verfahren zur getrennten quantitativen Bestimmung der einzelnen Wirkstoffe (Wuchs- und Hemmstoffe) nebeneinander unbedingt Voraussetzung.

Bei der Trennung nahe verwandter Naturstoffe voneinander hat sich die von TSWETT (1906, 1910) erstmals verwendete und später durch KUHN und BROCKMANN (1932) u. a. zu einer leistungsfähigen Methode ausgearbeitete chromatographische Adsorptionsanalyse (vgl. ZECHMEISTER und CHOLNOKY 1938) in zahlreichen Fällen bestens bewährt. Es erschien naheliegend, mit Hilfe dieser Methode auch eine Trennung der verschiedenen Wuchs- und Hemmstoffe zu versuchen.

A. Charakteristik der untersuchten Pflanzenextrakte.

Als Untersuchungsobjekte wurden 2 Pflanzen ausgewählt, welche sich hinsichtlich des Verhaltens ihrer Extrakte (sowie Diffusate) im Wuchsstofftest gegensätzlich verhalten, und zwar Sprossenkohl und Flieder. Ersterer zeigt nach LINSER (1939, 1940) im Pastentest, welcher der vorliegenden Arbeit als Methode diente[1], eine außerordentlich starke Wuchsstoffwirkung sowohl im Längenzuwachswert Z wie auch im Krümmungswinkel α, Fliederblätterextrakt dagegen weist im Pastentest sowohl hinsichtlich des Zuwachswertes als auch im Verhalten des Krümmungswinkels in Abhängigkeit von der angewendeten Konzentration nur hemmende Eigenschaften auf und wurde deshalb als „hemmstoffhaltig" bezeichnet.

Von beiden Pflanzen dienten alkoholische Extrakte als Ausgangsmaterial, wobei diese Extrakte für die Testung zur Trockne eingedampft und die Rückstände in Lanolinpaste aufgenommen wurden. Hierbei wurde als Normalkonzentration (= n bzw. 1/1) jene bezeichnet, welche beim Aufnehmen von einer 1 g Frischsubstanz der Pflanze entsprechenden Menge an Trockenrückstand des Alkoholextraktes in 1 g Paste vorlag.

Abb. 1 stellt die Wirkung verschiedener Konzentrationen (n/1, n/10, n/100 und 0) von Sprossenkohlextrakt (obere Reihe) und von Fliederblätterextrakt (untere Reihe) einander im Bilde gegenüber, um den

[1] Die Durchführung der Testversuche lag in Händen von Frau LINA HALLER und Frl. HANNE REPP; letzterer sei auch für die exakte Ausführung von Chromatogrammen gedankt.

augenscheinlichen Unterschied des Verhaltens beider Extrakte anschaulich zu machen. Weiters gibt Abb. 2 die bei verschiedenen Konzentrationen erhaltenen Zuwachswerte Z (in Prozent des Kontrollzuwachswertes K_{24}, also des Längenzuwachses unbehandelter Koleoptilen während der 24stündigen Versuchsdauer) für Sprossenkohlextrakt (links) und für Fliederextrakt (rechts). Abb. 3 dagegen stellt die entsprechenden Werte für die Krümmungswinkel dar. Diese zeigen im Falle des Flieders n/10 eine S-förmige Krümmung, welche dadurch zustande kommt, daß

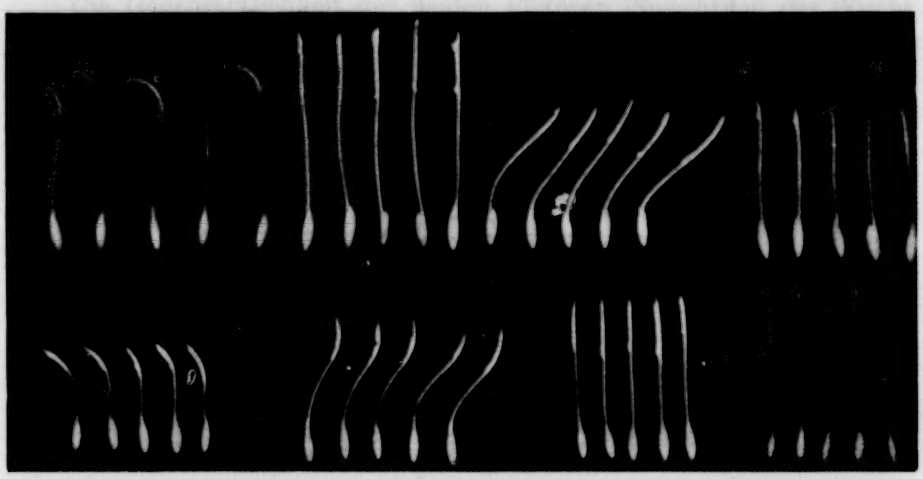


Abb. 1. Obere Reihe: *Sprossenkohl.* Trockenrückstand eines Alkoholextraktes in Lanolinpaste an *Avena-Koleoptilen.* — Untere Reihe: *Flieder* (Blätter). Trockenrückstand eines Alkoholextraktes in Lanolinpaste an *Avena-Koleoptilen.* Von links nach rechts: Bei jeweils 5 Keimlingen beträgt die Konzentration der Sprossenkohl- bzw. der Flieder-Extraktsubstanz n, n/10, n/100 und 0 (vgl. Text).

der Fliederextrakt die eng anliegende Koleoptilzone zwar im Längenwachstum hemmt, daß er aber doch eine geringe Menge an zellstreckendem Wuchsstoff enthält, welche nach abwärts diffundiert und dort eine Krümmung von der Pastenseite weg veranlaßt. Es muß hierbei darauf hingewiesen werden, daß es sich bei den dargestellten Kurven um mittlere Ergebnisse, aus mehreren zu verschiedenen Zeiten angesetzten Versuchen handelt, welche mit einem mittleren Fehler von $\pm 10^0$ Z-Einheiten bzw. etwa $\pm$ 10% der α-Werte behaftet sind. Da zu verschiedenen Zeiten angestellte Versuche je nach der Jahreszeit bzw. dem endogenen Rhythmus (Linser 1950a) verschieden gut für Testversuche geeignet sind und die verschiedenen Versuchspflanzen zu verschiedenen Zeiten verschiedene Empfindlichkeiten den Wuchsstoffen gegenüber aufweisen bzw. selbst verschieden schnell wachsen, können die wiedergegebenen Kurvenbilder nur als eine Darstellung des Typus der Konzentrationsabhängigkeit der Wirkungen der Extrakte betrachtet werden, während ihre Heranziehung als Eichkurven nur bedingt und nur unter Berück-

sichtigung der Gleichzeitigkeit von Bestimmungen möglich ist. Man ist aus den kurz erwähnten Gründen gezwungen, zu jedem neuen Versuch eine zugehörige Eichkurve gleichzeitig neu aufzunehmen, welche, mit

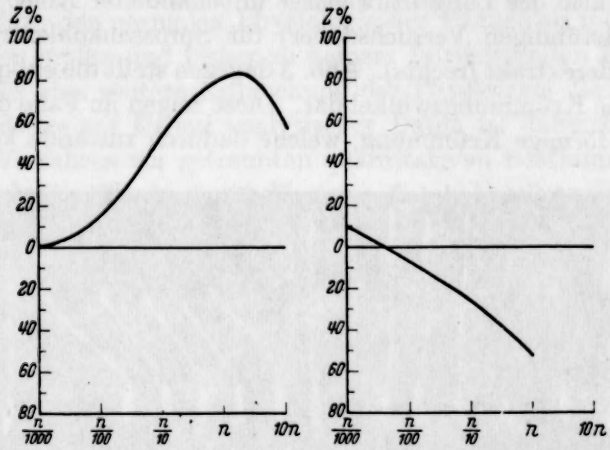


Abb. 2. Links: Sprossenkohlextrakt. Rechts: Fliederblätterextrakt. Längenzuwachswerte (Z-%).

entsprechenden ungleichzeitigen Kurven verglichen, allerdings stets den gleichen Typus des Kurvenverlaufes aufweist und sich fast nur in der absoluten Höhe ihrer Einzelwerte unterscheidet.

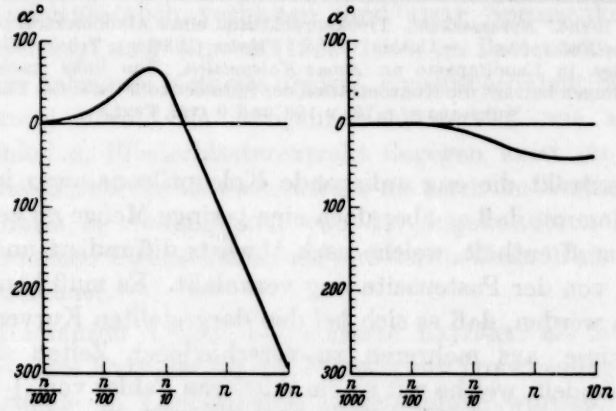


Abb. 3. Links: Sprossenkohlextrakt. Rechts: Fliederblätterextrakt. Krümmungswinkel (nach oben hin von der Pastenseite weg, nach unten hin zur Pastenseite hin gerichtete Krümmungswinkel).

Die für Sprossenkohlextrakt erhaltenen Kurven haben in ihrem Verlauf eine unverkennbare Ähnlichkeit mit jenen, welche man mit reiner Indol-3-essigsäure erhält, unterscheiden sich jedoch immerhin so sehr von diesen, daß es nicht möglich ist, sie zur Deckung zu bringen. Wäre nämlich im pflanzlichen Extrakt nur Indol-3-essigsäure in einer beliebigen Menge enthalten, so müßte sich die durch Verdünnung erhaltene

Kurve der Konzentrationsabhängigkeit ihrer Wirkung entlang der Konzentrations-(x-)Achse des Koordinatensystems der Abb. 2 und 3 durch einfache Parallelverschiebung mit jener für Indol-3-essigsäure zur Deckung bringen lassen, was jedoch nicht möglich ist. Andererseits weisen die Kurven für Fliederblätterextrakt eine Ähnlichkeit mit den für 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure bzw. für Phenoxyessigsäure (LINSER 1950b) erhaltenen auf und lassen eine überwiegende Hemmstoffwirksamkeit erkennen.

Die Gegensätzlichkeit der beiden Pflanzen hinsichtlich des Wuchsstoffverhaltens ihrer Extrakte kommt in deutlicher Weise nur an der *Avena-Koleoptile* zum Ausdruck, während im Moewus-Test hinsichtlich ihrer Wirkung an der Kressewurzel kein so deutlicher Unterschied zur Geltung kommt. Im Gegensatz zum Pastentest bzw. zur Wirkung auf die *Avena-Koleoptile* zeigt der Fliederextrakt eine relativstärkere, fördernde Wirkung auf das Wurzelwachstum als der Sprossenkohlextrakt,

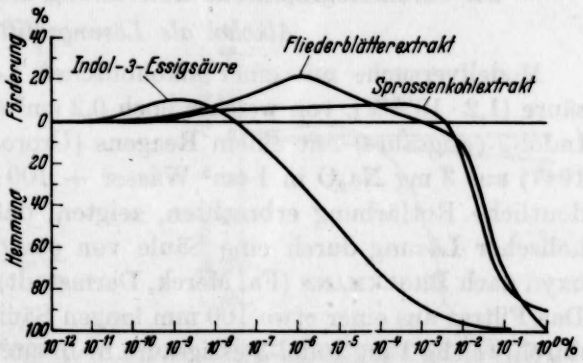


Abb. 4. Das Verhalten verschiedener Konzentrationen von Indol-3-essigsäure, Fliederblätterextrakt und Sprossenkohlextrakt im Kressewurzeltest nach MOEWUS. (Für die Extrakte ist an Stelle von 10°% die Konzentrationsangabe n zu setzen.)

welch letzterer trotz seiner starken Wuchsstoffwirkung auf die *Avena-Koleoptile* fast keine fördernde Wirkung auf das Wurzelwachstum erkennen ließ (Abb. 4). Die Indol-3-essigsäure dagegen zeigt einen deutlichen Förderungsbereich (MOEWUS 1948 sowie Abb. 4). Weder der Fliederblätterextrakt noch der Sprossenkohlextrakt zeigen danach in der Konzentrationsabhängigkeit ihrer Wirkung im Kressewurzeltest eine Übereinstimmung mit Indol-3-essigsäure.

Während die allgemein zu beobachtende hemmende Wirkung stärkerer Konzentrationen von Pflanzenextrakten auf die Kressewurzel mit ansteigender Verdünnung bei vielen Pflanzen relativ stark absinkt, so daß bei Ackersenf beispielsweise bei n/100 bereits eine fördernde Wirkung vorhanden ist und bei Gartenkresse und Flieder der Übergang von der hemmenden zur fördernden Wirkung bei etwa n/1000 liegt, zeigen die Extrakte anderer Pflanzen ein wesentlich langsameres Abfallen der Hemmungswirkung mit fallender Extraktkonzentration, so daß bei Springkraut oder Erbsenkeimlingen beispielsweise die bei n fast 100%ige Hemmung erst bei n/1000000 verschwindet. Es liegen bei verschiedenen Pflanzen daher recht verschiedenartige Typen an Konzentrations-Wirkungskurven im Kressetest vor, welche ebenfalls untereinander durch Parallelverschiebung nicht zur Deckung gebracht werden können und daher das Vorliegen verschiedener Wuchsstoffe bzw. verschiedenartiger Mischungsverhältnisse von Wuchs- und Hemmstoffen vermuten

lassen, wie dies bereits aus Ergebnissen zu schließen war, welche an der Pastenmethode bei *Avena-Koleoptilen* gewonnen worden waren (LINSER 1939).

Das Ergebnis des Versuches, durch die Charakteristik der Konzentrationsabhängigkeit der Wirkung eine Aussage über die Art des in der Pflanze vorhandenen Wuchsstoffes zu gewinnen, zeigt uns in Übereinstimmung mit unseren sonstigen Kenntnissen auf diesem Gebiete, daß in der Pflanze keineswegs nur Indol-3-essigsäure vorliegen kann und daß man es mit mehreren verschiedenen Wuchs- und wahrscheinlich auch Hemmstoffen zu tun hat.

B Die chromatographische Abtrennung der Indol-3-essigsäure[1].

Alkohol als Lösungsmittel.

Modellversuche mit einer alkoholischen Lösung von Indol-3-essigsäure ($1{,}2 \cdot 10^{-2}$%), von welcher noch 0,2 cm³ (entsprechend $2{,}4 \cdot 10^{-5}$ g Indol-3-essigsäure) mit einem Reagens (Ururoseinreaktion nach WEISS 1947) aus 3 mg Na_2O in 1 cm³ Wasser + 100 cm³ konz. Salzsäure eine deutliche Rotfärbung erbrachten, zeigten, daß Heteroauxin aus alkoholischer Lösung durch eine Säule von standardisiertem Aluminiumoxyd nach BROCKMANN (Fa. Merck, Darmstadt) restlos adsorbiert wurde. Das Filtrat aus einer etwa 100 mm langen Säule von 7 mm Querschnitt, durch welche 1 mg Indol-3-essigsäure in 10 cm³ Alkohol durchgeschüttet worden war, zeigte keine Farbreaktion mehr und war, wie Abb. 5 zeigt, im Pastentest wirkungslos. Im Kressewurzeltest verschwand durch Filtration durch die Säule, wie Abb. 6 zeigt, die Heteroauxinwirkung ebenfalls, doch scheint die Kressewurzel gegenüber dem aus der Säule gelösten Aluminiumoxyd in unspezifischer Weise gehemmt worden zu sein (Kurve B).

Eine Zerlegung solcher, mit alkoholischen Lösungen von Indol-3-essigsäure beschickten Säulen in verschiedene Abschnitte ergab, daß die Indol-3-essigsäure zur Gänze in den obersten Schichten der Säule adsorbiert wird. Während aus dem obersten, 10 mm langen Abschnitt einer Säule durch Elution mit n/100 KOH eine Lösung gewonnen wurde, welche die kräftige Farbreaktion der Indol-3-essigsäure ergab, ließ sich aus allen weiteren Abschnitten keine solche eluieren. Daß die Elution mit n/100 Länge annähernd quantitativ verläuft, zeigte ein Versuch (Abb. 7), bei dem die für das Eluat gefundenen Werte mit jenen des Originalextraktes annähernd übereinstimmten. Auch dabei ergab sich, wie im Falle der Abb. 6, eine schwach hemmende Wirkung wahrscheinlich des im Filtrat gelösten Aluminiumoxydes.

Während aus 96%igem Alkohol die Hauptmenge der Indol-3-essigsäure in den beiden obersten Abschnitten (im obersten Viertel) der Säule

[1] Ich danke Herrn H. HÖLLER für Mitarbeit bei den ersten orientierenden, sowie Herrn H. AUST bei weiteren diesbezüglichen Versuchen.

adsorbiert wurde, verteilte sich aus 83%igem Alkohol das Heteroauxin auf das oberste Drittel der Säule.

Eine quantitative Auswertung wurde an einer Aluminiumoxydsäule versucht, welche in 8 verschieden lange Abschnitte zerteilt wurde. Jeder dieser Abschnitte wurde für sich eluiert und getestet. Die folgende Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die an Hand von Eichkurven bestimmten, eluierten Wuchsstoffmengen und über die Konzentration der Indol-3-essigsäure in den einzelnen Abschnitten der Säule.

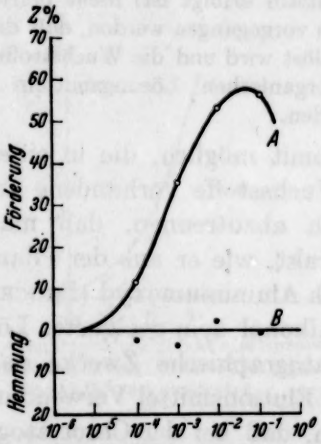


Abb. 5. *A* 1 mg Indol-3-essigsäure in 10 cm³ Alkohol, eingedampft und Rückstand in Lanolinpaste unmittelbar (bzw. in Verdünnungen) getestet. — *B* 1 mg Indol-3-Essigsäure in 10 cm³ Alkohol, durch die Al_2O_3-Säule geschickt und Abdampfrückstand in Lanolinpaste aufgenommen und getestet.

Da die eluierten Wuchsstoffmengen in jeweils 2 g aufge-

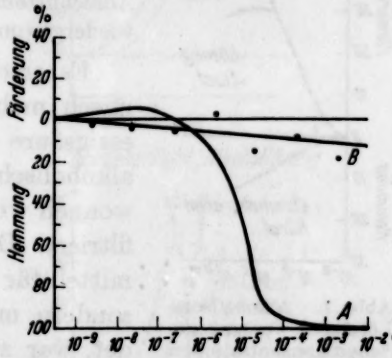


Abb. 6. *A* 0,5 mg Indol-3-essigsäure in 10 cm³ Alkohol, Rückstand im Kressenwurzeltest getestet. — *B* Gleiche Lösung, durch Al_2O_3-Säule gelaufen, Abdampfrückstand im Kressenwurzeltest.

nommen wurden, müßte die Gesamtmenge an wiedergefundener Indol-3-essigsäure eine 1%ige Paste, d. h. einen Konzentrationswert von

Tabelle 1. *Chromatogramm von 20 mg Indol-3-essigsäure aus 83%igem Alkohol auf Aluminiumoxyd. Bilanzversuch.*

Schicht	Höhe der Schicht cm	Winkelwert	Zuwachswert *Z* %	Aus dem Winkel ermittelte Wuchsstoffmenge (Konzentrationswerte)	Aus dem Wert *Z* ermittelte Wuchsstoffmenge (Konzentrationswerte)	Mittelwert	Wert je 1 cm Säule
1	0,85	12,9	114,0	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	$1{,}8 \cdot 10^{-1}$	$1{,}9 \cdot 10^{-1}$	2,2
2	0,65	—	120,0	—	$1{,}0 \cdot 10^{-1}$	$1{,}0 \cdot 10^{-1}$	1,5
3	0,55	21,4	98,2	$1{,}6 \cdot 10^{-1}$	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	$1{,}8 \cdot 10^{-1}$	3,3
4	1,05	19,6	60,0	$1{,}6 \cdot 10^{-1}$	—	$1{,}6 \cdot 10^{-1}$	1,3
5	2,60	26,7	92,0	$6{,}0 \cdot 10^{-2}$	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	$1{,}3 \cdot 10^{-1}$	0,5
6	6,50	54,0	32,6	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$	$3{,}0 \cdot 10^{-4}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$	0,4
7	2,00	20,0	0,6	0,0	0,0	—	0,0
8	5,80	0,0	8,0	0,0	0,0	—	0,0
Gesamt	—	—	—			$7{,}6 \cdot 10^{-1}$	

1% ergeben. Tatsächlich wurde jedoch insgesamt nur ein Konzentrationswert von $7{,}6 \cdot 10^{-1}$ gefunden. Von der verwendeten Indol-3-essigsäure konnten somit 76% wiedergefunden werden.

Dies ist im Hinblick auf die relativ großen Fehler, welche bei der quantitativen Bestimmung des Wuchsstoffes im physiologischen Test unterlaufen, ein recht günstiges Ergebnis.

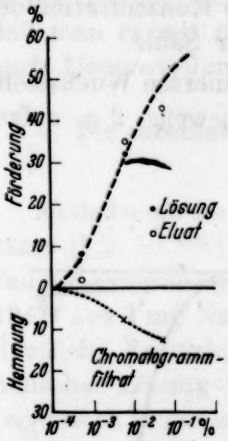


Abb. 7. Alkoholische Lösungen der angegebenen Konzentrationen von Indol-3-essigsäure wurden durch Al_2O_3-Säulen geschickt. Sie wurden vorher (Lösung) und nachher (Chromatogrammfiltrat) als Lanolinpaste getestet. Die Säulen wurden mit n/100 NaOH eluiert; das neutralisierte Eluat wurde ebenfalls in Lanolin getestet (Eluat).

Da die Elution der Al_2O_3-Säulen mit wäßriger NaOH mitunter (besonders wenn die Adsorption aus wasserabstoßenden Lösungsmitteln erfolgt ist) nicht befriedigend gelingt, kann auch so vorgegangen werden, daß die Säule in Säure völlig aufgelöst wird und die Wuchsstoffe durch Ausschütteln mit organischen Lösungsmitteln daraus wiedergewonnen werden.

Es erscheint somit möglich, die in einem Gemisch mehrerer Wuchsstoffe vorhandene Indol-3-essigsäure dadurch abzutrennen, daß man den alkoholischen Extrakt, wie er aus der Pflanze gewonnen wird, durch Aluminiumoxyd (BROCKMANN) filtriert. Da der Alkohol kein geeignetes Lösungsmittel für chromatographische Zwecke darstellt, sondern mehr als Elutionsmittel Verwendung findet, war zu hoffen, daß bei der Chromatographie aus alkoholischer Lösung außer der Indol-3-essigsäure andere Wirkstoffe nicht an die Säule adsorbiert würden oder daß etwa doch adsorbierte Stoffe durch Nachwaschen mit reinem Alkohol wieder eluierbar blieben.

Zugleich erhob sich die Frage, ob die Adsorption der Indol-3-essigsäure an Aluminiumoxyd auch dann in gleicher Weise stattfindet, wenn Pflanzenextraktstoffe in der Lösung vorliegen. Es wurde deshalb eine Mischung von 5 cm³ alkoholischem Sprossenkohlextrakt mit 5 cm³ alkoholischer Lösung von Indol-3-essigsäure ($1{,}2 \cdot 10^{-2}$%) durch eine 150 mm lange Säule von Aluminiumoxyd (BROCKMANN) geschickt. Das Filtrat zeigte keine Farbreaktionen, die Hauptmenge des Heteroauxins war in den obersten 10 mm durch Elution mit n/100 KOH und Farbreaktion auffindbar, wogegen die unteren 100 mm der Säule völlig heteroauxinfrei waren und keine Farbreaktion zeigten.

C. Chromatographie des Sprossenkohlextraktes.

Es erwies sich somit als möglich, auch aus einem Gemisch verschiedener pflanzlicher Extraktstoffe in alkoholischer Lösung die Indol-3-essigsäure an Aluminiumoxyd zu adsorbieren. Um zu klären, ob hierbei

die anderen, im alkoholischen Extrakt vorhandenen Wuchsstoffe ebenfalls adsorbiert werden oder ob sie sich im Filtrat wiederfinden lassen, war qualitativ schnell dahingehend beantwortet, daß zum mindesten ein großer Teil der pflanzeneigenen Wuchsstoffe die Säule ohne Adsorption passiert und im Filtrat auffindbar bleibt. Der nicht chromatographierte alkoholische Sprossenkohlextrakt ergab im Pastentest

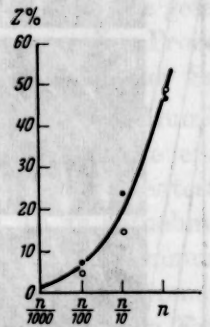


Abb. 8. Alkoholischer Extrakt aus Sprossenkohl: ● direkt getestet; ○ nach Durchlaufen der Al_2O_3-Säule getestet.

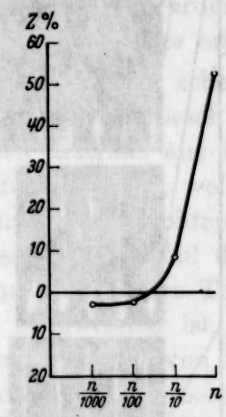
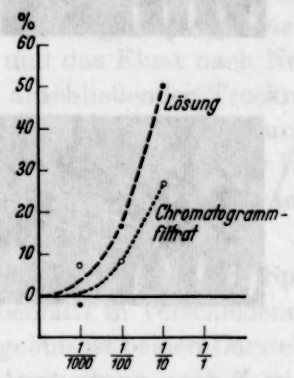


Abb. 9. Eluat (n/100 NaOH, neutralisiert, in Lanolinpaste überführt) aus einer Al_2O_3-Säule, durch welche alkoholischer Sprossenkohlextrakt gelaufen war.



Sprossenkohl, Alkohollösung

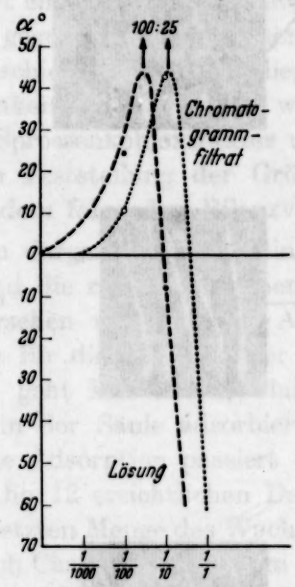


Abb. 10. Alkoholextrakt von Sprossenkohl im Pastentest, als solcher und nach Durchlaufen der Al_2O_3-Säule.

annähernd die gleiche Wirksamkeit wie der durch die Säule gelaufene (Abb. 8). Beim Durchgießen von 33 cm³ Sprossenkohlextrakt, welcher einer Pflanzenmenge von 10 g Frischsubstanz entsprach, ergab sich nach Elution der obersten 25 mm mit n/100 KOH und Neutralisation mit n/100 HCl im Kressewurzeltest eine deutliche Hemmungswirkung (von 65,6%), was zeigt, daß eine ziemlich starke Wuchsstoffwirksamkeit in der Säule festgehalten wurde.

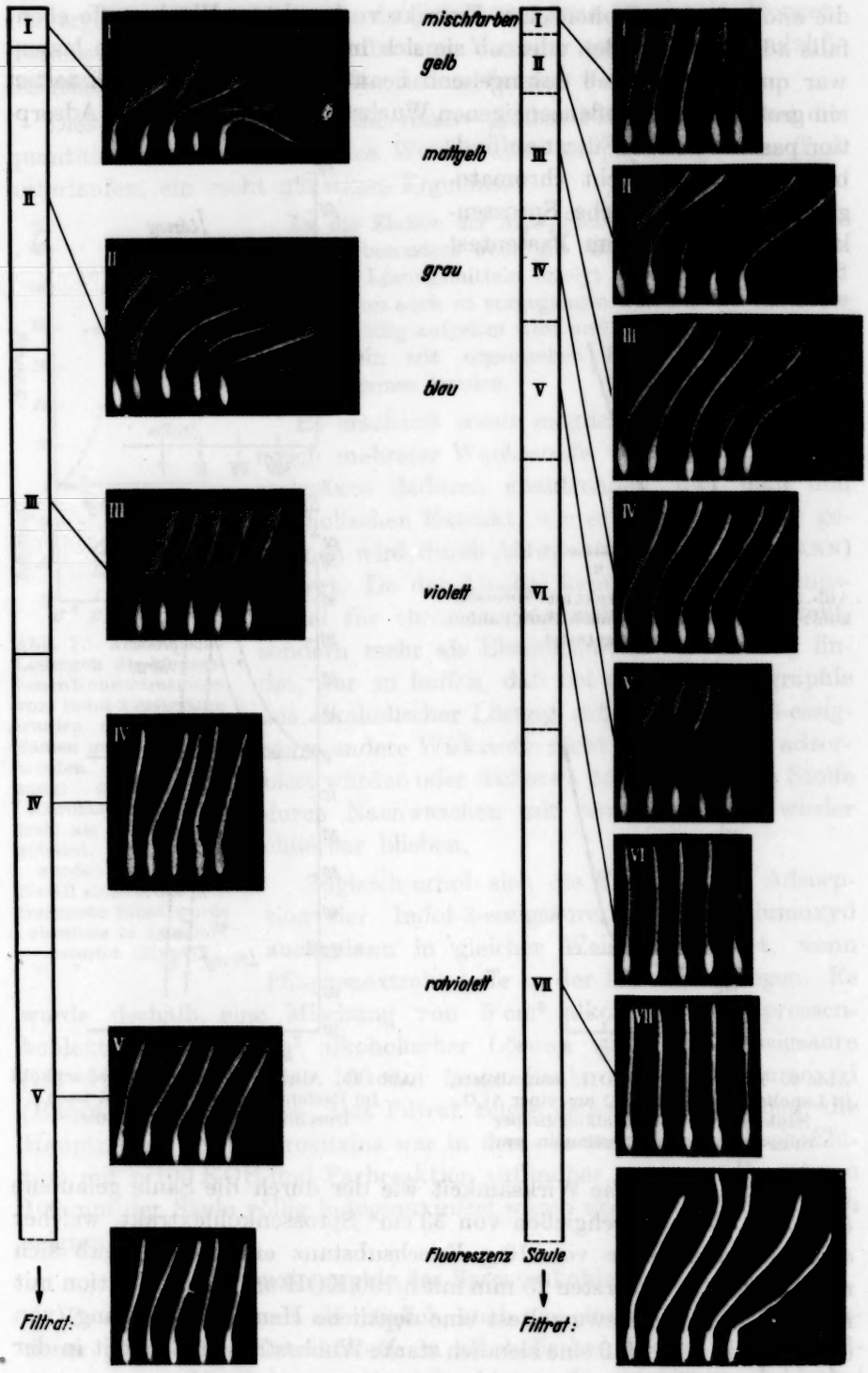

I
II
III
IV
V
mischfarben
gelb
mattgelb
grau
blau
violett
rotviolett
Fluoreszenz Säule
Filtrat:
Filtrat:

Abb. 11.

In einem etwas größer angelegten Versuch wurde eine 1 g Frischsubstanz entsprechende Menge von 10 cm³ Alkoholextrakt von Sprossenkohl durch eine etwa 100 mm lange und 7 mm im Durchmesser betragende Säule von Aluminiumoxyd (BROCKMANN) geschickt und mit 5 cm³ Alkohol nachgewaschen, welcher abgesaugt wurde. Die Säule wurde daraufhin mit n/100 NaOH eluiert und das Eluat nach Neutralisation und Extraktion mit Alkohol sowie anschließender Trocknung in Lanolinpaste aufgenommen, welche in verschiedenen Verdünnungen an der *Avena-Koleoptile* getestet wurde. Abb. 9 zeigt an Hand der Längenzuwachswerte (Z in Prozent von K_{24}), daß in der Säule eine beträchtliche Menge an wirksamer Substanz adsorbiert wurde.

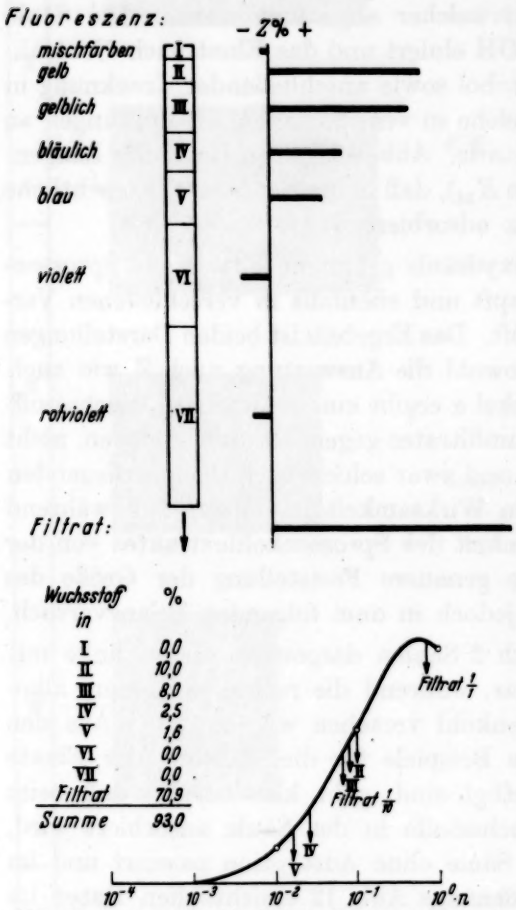
Das durch die Aluminiumoxydsäule gelaufene Filtrat des Sprossenkohlextraktes wurde eingedampft und ebenfalls in verschiedenen Verdünnungen im Pastentest geprüft. Das Ergebnis ist beiden Darstellungen der Abb. 10 zu entnehmen. Sowohl die Auswertung nach Z wie auch jene nach dem Krümmungswinkel α ergibt eine schwächere Wuchsstoffwirksamkeit des Chromatogrammfiltrates gegenüber dem gleichen, nicht chromatographierten Extrakt, und zwar schien nach dem vorliegenden Ergebnis etwa $^1/_4$ der gesamten Wirksamkeit im Filtrat auf, während etwa $^3/_4$ der Wuchsstoffwirksamkeit des Sprossenkohlextraktes von der Säule adsorbiert wurden. Die genauere Feststellung der Größe des adsorbierten Anteiles erfolgte jedoch in dem folgenden Bilanzversuch.

In Abb. 11 sind schematisch 2 Säulen dargestellt, deren linke mit Indol-3-essigsäure beschickt war, während die rechte mit einem alkoholischen Extrakt aus Sprossenkohl versehen worden war. Aus den Krümmungsbildern, welche als Beispiele für die Wirkung der Eluate der einzelnen Schichten beigefügt sind, geht klar hervor, daß beim Sprossenkohl ein Teil der Wuchsstoffe in der Säule adsorbiert wird, während der größere Teil die Säule ohne Adsorption passiert und im Filtrat nachweisbar ist. Aus den aus Abb. 12 ersichtlichen Daten ist zu entnehmen, daß von der gleich 100 gesetzten Menge des Wuchsstoffes im alkoholischen Sprossenkohlextrakt nach Chromatographie im Bilanzversuch insgesamt 93% wiedergefunden werden konnten, und zwar 70,9% im Filtrat, während nur 22,1% in der Säule adsorptiv festgehalten worden waren.

Ein weiterer Versuch dieser Art brachte die in Tabelle 2 zusammengestellten Werte. Hierbei wurde eine in 8 Schichten zergliederte Säule

Abb. 11. Links: Chromatogramm von Indol-3-essigsäure aus 96%igem Alkohol auf Aluminiumoxyd. Die gesamte Wirksamkeit bleibt in den obersten Schichten (I und II) adsorbiert. Das Filtrat ist praktisch frei von Wuchsstoff. Rechts: Chromatogramm von Sprossenkohlextrakt aus Alkohol auf Aluminiumoxyd. Während die oberste Schicht nur wenig Wuchsstoff erkennen läßt, ist die Wirkung auf die Schichten II, III, IV und V verteilt. Die Hauptmenge der Wuchsstoffwirksamkeit findet sich dagegen im Filtrat, obwohl die dazwischenliegenden Schichten VI und VII wuchsstoffunwirksam sind.

verwendet (Lösungsmittel 83%iger Alkohol). Die Auswertung erfolgte an Hand einer gleichzeitig ermittelten Eichkurve für Sprossenkohlextrakt und ergab, daß 72,7% der Wirkstoffe in der Säule adsorbiert worden waren, während 28,0% davon im Filtrat wiedergefunden wurden, welche die Säule also ohne adsorbiert zu werden durchlaufen hatten. Die Summe von 100,7% zeigt, daß mit einem unbedeutenden Fehler die gesamte Menge der Sprossenkohlwuchsstoffe wiedergefunden wurde, daß also auch die Elution der Säule eine vollständige war.



Wuchsstoff in	%
I	0,0
II	10,0
III	8,0
IV	2,5
V	1,6
VI	0,0
VII	0,0
Filtrat	70,9
Summe	93,0

Abb. 12. Sprossenkohlextrakt, Chromatogramm aus 83%igem Alkohol (Originalextrakt) an Aluminiumoxyd. Bilanzversuch.

Indol-3-essigsäure könnte, wie aus dem Versuch der Tabelle 1 und der Abb. 6*A* hervorgeht, ebenfalls annähernd quantitativ durch Elution gewonnen und an Hand einer gleichzeitig bestimmten Eichkurve bestimmt werden. Da jedoch die beiden Eichkurven für Indol-3-essigsäure und für Sprossenkohlextrakt nicht identisch sind und verschiedene Charakteristik aufweisen, ist es nicht möglich, die für Extrakte gewonnenen Werte in Indol-3-essigsäure-Äquivalenten auszudrücken. Es ist daher auch nicht möglich, in Gemischen von Indol-3-essigsäure mit Extraktwuchsstoffen eine Bilanz aufzustellen, wie sie für reine Wuchsstoffe bzw. Extrakte allein gelingt.

Wollte man dennoch eine quantitative Auswertung versuchen, so müßte man jeweils erst prüfen, ob die Charakteristik der Eichkurven für die Komponenten des Gemisches übereinstimmt oder nicht. Die Übereinstimmung der an Hand der Winkelwerte gefundenen Wuchsstoffmengen bzw. Konzentrationen mit jenen, welche an Hand der *Z*-%-Werte gefunden werden, ist hierfür ein Maßstab. Die Diskrepanz der Zahlen in den beiden Versuchen der Abb. 9/10 und 11/12 kann zunächst nicht geklärt werden. Es ist möglich, daß der verschiedene Wassergehalt der alkoholischen Extrakte eine Verschiebung im Verhältnis der adsorbierten zur nichtadsorbierten Wuchsstoffmenge herbeigeführt hat oder daß bei den verwendeten

Tabelle 2. *Chromatographie eines alkoholischen Extraktes* (83% Alkohol) *von 2 g Frischsubstanz Sprossenkohlextrakt an einer Säule* (2,0/20 cm) *von Aluminiumoxyd* (BROCKMANN). Elution mit n/10 NaOH, Neutralisation und Alkoholextraktion. Prüfung im Pastentest. Die Wuchsstoffkonzentration einer Paste, welche den Extrakt in der gleichen Menge enthält, wie er in der frischen Pflanze vorlag, ist $nK = 1$ gesetzt; die Eluate wurden ebenfalls in je 2 g Paste übergeführt. (Vs. 236.)

Säulenabschnitt Nr.	Länge des Abschnittes cm	Wuchsstoffkonzentration der Paste (nK) bestimmt aus		Mittelwert der Wuchsstoffkonzentration	
		Winkel	Z-%		
1	0,85	$2{,}0 \cdot 10^{-4}$	0	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	0,00012
2	0,65	$6{,}3 \cdot 10^{-2}$	$4{,}2 \cdot 10^{-2}$	$5{,}2 \cdot 10^{-2}$	0,052
3	0,55	$6{,}0 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$	$6{,}3 \cdot 10^{-2}$	0,063
4	1,05	$8{,}0 \cdot 10^{-2}$	$1{,}0 \cdot 10^{-1}$	$0{,}9 \cdot 10^{-1}$	0,09
5	2,60	$9{,}0 \cdot 10^{-2}$	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	0,15
6	6,50	$2{,}8 \cdot 10^{-1}$	$2{,}7 \cdot 10^{-1}$	$2{,}8 \cdot 10^{-1}$	0,28
7	2,00	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$	$7{,}0 \cdot 10^{-2}$	$6{,}8 \cdot 10^{-2}$	0,068
8	5,80	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$3{,}2 \cdot 10^{-2}$	$2{,}4 \cdot 10^{-2}$	0,024
Summe	20,00				0,72712
Filtrat	—	$3{,}7 \cdot 10^{-1}$	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	$2{,}8 \cdot 10^{-1}$	0,28
Gesamt	—	—	—	—	1,007

Extrakten tatsächlich verschiedene Mengenverhältnisse beider Wuchsstoffe bestanden hatten. Hier kommt es uns zunächst nur darauf an, zu zeigen, daß sich eine Trennung von zwei verschiedenen Wuchsstoff-Fraktionen auf chromatographischem Wege überhaupt erzielen läßt.

Da somit ein Teil des Wuchsstoffes aus dem Sprossenkohlextrakt in ähnlicher Weise wie die Indol-3-essigsäure aus Alkohol an Aluminiumoxyd adsorbierbar ist, erhebt sich die Frage, ob es sich bei diesem Teil nun wirklich um Indol-3-essigsäure handelt oder ob in der Säule auch noch ein anderer Wuchsstoff des Sprossenkohls adsorbiert wird. Diese Frage kann exakt erst nach weiterem Studium beantwortet werden, wenn eine Trennung des Eluates der wirksamen Schichten des Adsorbates aus Alkohol an Aluminiumoxyd in anderen Lösungsmitteln und an anderen Adsorbentien versucht worden sein wird. Dagegen konnte sofort versucht werden, nachzuprüfen, ob die an Aluminiumoxyd adsorbierten Wuchsstoffmengen die Ororoseinreaktion geben und sich somit — zum Teil wenigstens — als Heteroauxine vom Indoltypus erweisen würden. Tatsächlich konnte im Eluat von Säulen, welche von alkoholischen Sprossenkohlextrakten durchlaufen worden waren, wenn genügend große Mengen zur Anwendung gelangten, ein positiver Ausfall der Ororoseinreaktion erhalten werden, welcher auf das Vorhandensein von Heteroauxin hinweist. Es kann somit als nachgewiesen gelten, daß auch im Sprossenkohlextrakt Heteroauxin vorhanden ist bzw. daß Wuchsstoffe vom Indoltypus darin vorliegen. Es konnte jedoch bisher keine Ororoseinreaktion in den wuchsstoffwirksamen Filtraten aus den Aluminiumoxydchromatogrammen erhalten werden, was wahrscheinlich

macht, daß die an Aluminiumoxyd aus Alkohol nicht adsorbierbaren Wuchsstoffe von anderer Natur sind und nicht dem Indoltypus angehören. Es bleibt noch zu klären offen, ob es sich bei diesen sehr stark wirksamen Stoffen um die KÖGLschen Auxine handelt oder ob man es mit bisher noch unbekannten Wuchsstoffen zu tun hat.

Im Zusammenhang mit dieser Frage wurden einige orientierende Versuche durchgeführt, deren Ergebnisse zeigen, daß eine weitere chromatographische Trennung der an Aluminiumoxyd nicht adsorbierten Wuchsstoffe an andersartigen Adsorptionsmitteln möglich sein dürfte.

Tabelle 3. *Chromatographie einer Petrolätherlösung der aus Alkohol nicht an Aluminiumoxyd adsorbierten Wuchsstoffe des Sprossenkohlextraktes an einer Säule* (2,0/22 cm) *von Puderzucker.* Prüfung im Pastentest. Ausgangsmenge 10 $nK = 100\%$.

Säulenabschnitt Nr.	Länge des Abschnittes cm	Z-%	Wuchsstoffmenge in Prozent bestimmt aus Z-% an einer Sprossenkohlextrakteichkurve[1]	Winkel α
1	3,8	+33,3	0,3	+18,7
2	4,0	+13,3	0,1	−15,6
3	4,0	+ 5,3	0,05	−27,2
4	4,0	+23,6	0,2	−19,2
5	3,5	+44,7	0,7	+13,2
6	2,7	+73,6	6,4	+66,0
Summe	22,0	—	65,35	—
Filtrat	—	+51,8	1	+28,3
Gesamt	—	—	66,35	—

[1] Die Abweichungen dieser Bilanz sind relativ groß, weil die Eichkurve nicht *gleichzeitig* ermittelt wurde.

Die alkoholische Lösung eines Sprossenkohlextraktes wurde nach Durchlaufen einer Aluminiumoxydsäule — also nach Abtrennung der heteroauxinartigen Wuchsstoffe vom Indoltypus — zur Trockne eingedampft und der Rückstand in Petroläther aufgenommen. Diese Lösung wurde dann an einer Säule von Puderzucker chromatographiert, wobei mit reinem Petroläther so lange nachgewaschen wurde, bis die Chlorophylle in das Filtrat übergegangen waren. Die „Elution" erfolgte in diesem Falle durch Auflösen der Säulenabschnitte mit Wasser und Ausschütteln mit peroxydfreiem Äther. Der nach dem Verdampfen des Äthers bleibende Rückstand wurde in Lanolinpaste überführt und getestet. Die Chromatogrammsäule wurde hierbei in 6 Abschnitte geteilt, von welchen nur der unterste im Ultraviolettlicht noch etwas rote Chlorophyllfluoreszenz erkennen ließ.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3 zusammengestellt.

Die beiden oberen Abschnitte der Puderzuckersäule enthalten danach einen Wuchsstoff, der sich durch die fast wuchsstofffreie Säulenzone 3 von der weitaus größeren Menge eines zweiten Wuchsstoffes abgrenzt, welcher sich sowohl in den Abschnitten 4—6 der Säule wie zum Teil auch im Filtrat vorfindet (bei einem zweiten analogen Versuch, dessen Ergebnisse mit den hier besprochenen im Prinzip übereinstimmten,

blieb das Filtrat wirkungslos und die gesamte Wuchsstoffmenge der zweiten Art in der Zuckersäule adsorbiert). Es ist hierbei von besonderem Interesse, daß der in Säulenabschnitt 1 adsorbierte Wuchsstoff trotz seiner geringen Menge — welche eine positive Krümmung infolge Überdosierung, wie wir sie von der Indol-3-essigsäure kennen, ausschließt — *positive* Krümmungen ergibt. (Abschnitt 2 gibt möglicherweise einen Mischwert aus den in 1 und 3 vorhandenen Stoffen.) Während bei Elution des an einer Aluminiumsäule adsorbierten Wuchsstoffes aus Sprossenkohl das normale Krümmungsverhalten des Wuchsstoffes im Sinne der Indol-3-essigsäure beobachtet wird, zeigt der in den obersten Schichten an Puderzucker (aus Petroläther) adsorbierte Sprossenkohl-Wuchsstoff ein abweichendes Verhalten insofern, als er an Stelle der bei gleicher Wirkung auf *Z*-% zu erwartenden negativen Krümmungswinkel positive ergibt und überhaupt keine negativen Krümmungen zu bewirken scheint. In dieser Hinsicht unterscheidet sich der erwähnte Wuchsstoff auch in charakteristischer Weise von den Auxinen Kögls, von welchen ihr Vermögen, negative Krümmungswinkel zu erzeugen, bekannt ist, das ja zu ihrer Isolierung geführt hat. Der zweite, in den unteren Abschnitten der Zuckersäule vorhandene Wuchsstoff zeigt ebenfalls nur positive Winkelwerte, doch nur dort, wo so große Mengen davon vorliegen, daß sie durch Überdosierung (im Sinne des üblichen Krümmungsverhaltens der Wuchsstoffe) erklärbar sind. Wo er nur in geringen Mengen vorliegt (Abschnitte 3 und 4), läßt er erwartungsgemäß negative Krümmungen erkennen.

Auf das Vorliegen eines Wuchsstoffes, der trotz fördernder Wirkung auf das Längenwachstum keine negativen (von der Pastenseite weg gerichteten) Krümmungswinkel zustande kommen läßt, hat meines Wissens bisher niemand aufmerksam gemacht und es bleibt zu untersuchen, auf welchen Umstand dieses sonderbare Verhalten eines Wuchsstoffes zurückgeführt werden kann.

Außer auf Puderzucker wurde eine Trennung der nicht indolartigen Wuchsstoffe des Sprossenkohlextraktes auch noch aus Petroläther an Kalziumkarbonat versucht. Hierbei wurden ganz ähnliche Werte erhalten wie bei Verwendung von Puderzucker als Adsorptionsmittel (Vs. 310a).

Benzol als Lösungsmittel.

Ähnlich liegen die Verhältnisse, wenn anstatt Alkohol als Lösungsmittel Benzol verwendet wird. Wie Abb. 13 an einem mit dem in Abb. 11 wiedergegebenen Versuch übereinstimmenden Beispiel zeigt, wird in den benzolischen Chromatogrammfiltraten aus Aluminiumoxyd-(Brockmann) Säulen wesentlich weniger Wuchsstoffwirksamkeit angetroffen als in den alkoholischen Filtraten: aus Benzol werden also wesentlich

größere Wuchsstoffmengen an der Säule adsorbiert als aus Alkohol. Dies steht mit allen sonstigen Erfahrungen über das Verhalten der beiden Lösungsmittel bei der chromatographischen Adsorptionsanalyse in Übereinstimmung. Die für den Zuwachs Z gefundenen Werte lassen im vorliegenden Falle leider keine eindeutige Auswertung zu, da der bei der Konzentration n/10 gefundene Wert mit einer zu großen Abweichung behaftet zu sein scheint; die für die Krümmungswinkel aufstellbaren Kurven, welche nur geringe Sicherheit bieten (Abb. 13 unten), ergaben, daß im vorliegenden Falle nur etwa 1% der gesamten Wuchsstoffwirksamkeit des Extraktes von der Säule (aus Benzol) nicht adsorbiert wurde. Tatsächlich werden jedoch, wie der folgende Versuch zeigt, etwa 10% der Wirksamkeit in benzolischer Lösung von der Al_2O_3-Säule durchgelassen.

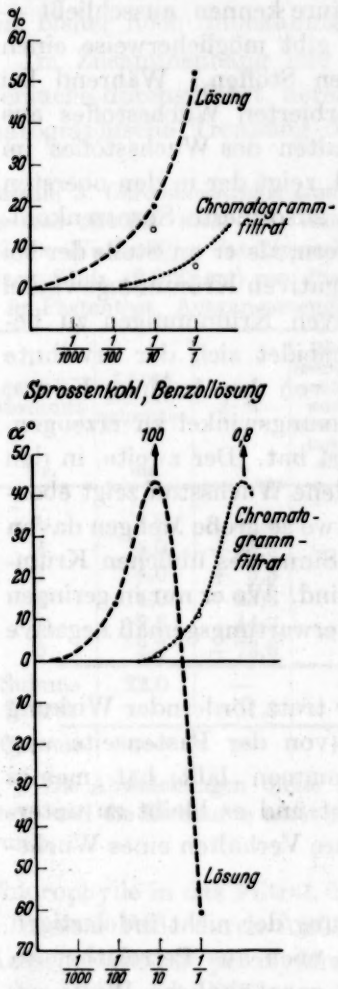


Abb. 13. Benzolische Lösung aus dem Rückstand eines Alkoholextraktes von Sprossenkohl im Pastentest, als solche und nach Durchlaufen der Al_2O_3-Säule.

Um festzustellen, für welche Mengen an Extraktsubstanz eine Säule ausreicht, wurden verschiedenen Mengen Frischsubstanz entsprechende Extraktmengen an gleichen Säulen chromatographiert und der Wuchsstoffgehalt der Chromatogrammfiltrate bestimmt.

Der alkoholische Extrakt aus Sprossenkohl wurde zur Trockne eingedampft und mit Benzol aufgenommen, wobei die benzolunlöslichen Bestandteile abgetrennt wurden. Durch Aluminiumoxydsäulen von je 10 cm Länge und 7 mm Durchmesser wurden solche Mengen des benzolischen Extraktes gegossen, welche jeweils 4, 2, 1 und 0,1 g Frischsubstanz an Sprossenkohl entsprachen. Der Wuchsstoffgehalt der Chromatogrammfiltrate wurde an Hand der Z-Werte gemäß Abb. 14 durch Ablesung an einer entsprechenden Eichkurve für Sprossenkohlextrakt (benzollösliche Bestandteile) festgestellt und mit den Gehalten der entsprechenden Lösungen *vor* dem Durchlaufen der Chromatogrammsäulen verglichen (Tabelle 4).

Von einer Menge von 4 g (Frischsubstanz) je Säule wurde also noch ein Anteil von fast 80% der gesamten Wuchsstoffwirksamkeit in der

Säule festgehalten, bei kleineren Mengen sogar ein Anteil von 90% und mehr. Die Adsorption an Aluminiumoxyd aus benzolischer Lösung

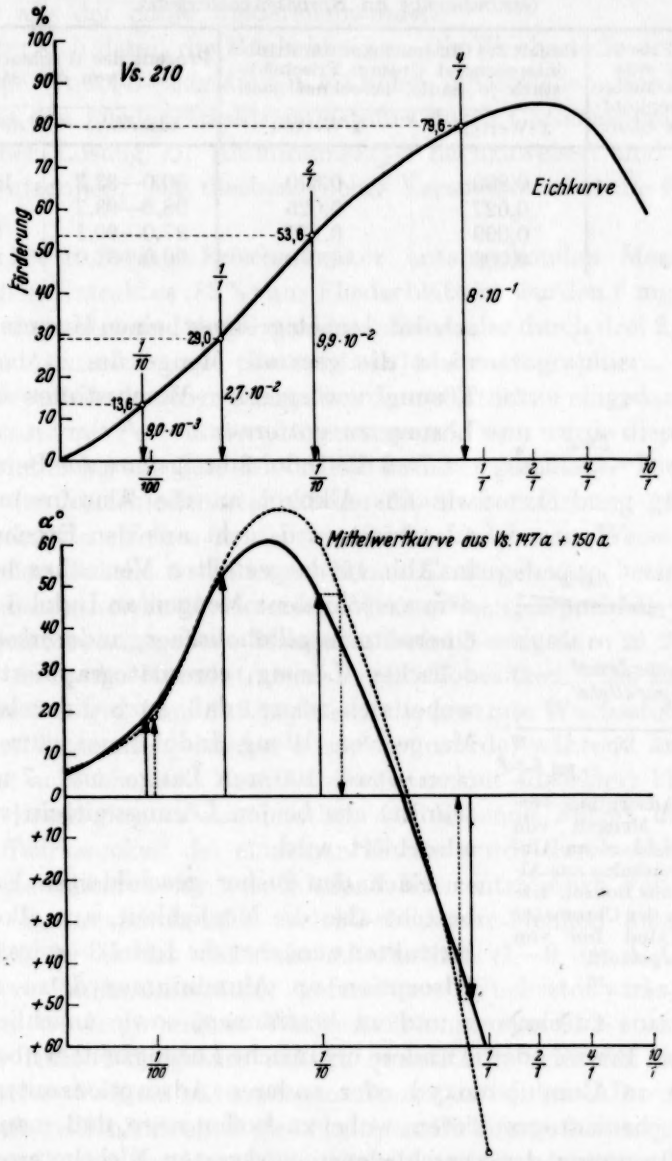


Abb. 14. Oben: An der für Sprossenkohlextrakt festgestellten Konzentrations-Wirkungskurve (Eichkurve) werden die für benzolische Chromatogrammfiltrate gefundenen Werte (lotrechte Linien) eingetragen und deren Wuchsstoffgehalt an der Eichkurve abgelesen (vgl. die neben den Linien angeführten Konzentrationsangaben). — Unten: Die stark ausgezogenen Pfeil-Linien geben die bei den entsprechenden Chromatogrammfiltraten gefundenen Krümmungswinkelwerte an, die stark ausgezogene Kurve gibt die aus diesen Werten erhaltene Konzentrations-Krümmungswirkungskurve wieder. Die punktiert ausgezogene Kurve gibt die für die Eichkurve des Sprossenkohlextraktes (in ungleichzeitigen Versuchen) gefundene Konzentrations-Krümmungswinkelkurve, welche von der ausgezogen gezeichneten Kurve nicht wesentlich abweicht. Die punktiert eingetragenen Pfeillinien geben die für die Chromatogramm-Filtrate an Hand der Krümmungswinkel gefundenen Konzentrationen (an der Abszisse ablesbar) an (vgl. Tabelle 2).

Tabelle 4. *Abhängigkeit der chromatographisch aus benzolischer Lösung an Aluminiumoxydsäulen adsorbierten Wuchsstoffmengen von der durch die Säulen geschickten Gesamtmenge an Sprossenkohlextrakt.*

Gramm Frischsubstanz entsprechende Menge an Sprossenkohlextrakt je Säule	Gehalt des Chromatogrammfiltrates entsprechend Gramm Frischsubstanz je Säule, berechnet nach		Prozent des Wuchsstoffes wurden von der Säule	
	Z-Werten	α-Werten	adsorbiert	durchgelassen
4,0	0,800	0,670	80,0—83,3	16,7—20,0
2,0	0,027	0,025	98,6—98,7	1,3— 1,4
1,0	0,099	0,130	87,0—90,1	9,9—13,0
0,1	0,009	0,010	90,0—91,0	9,0—10,0

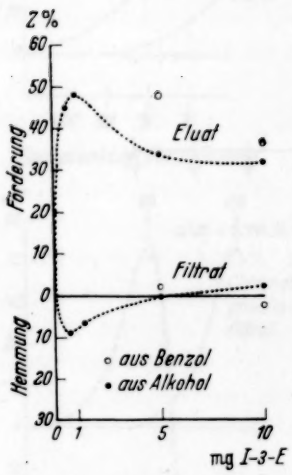


Abb. 15. Adsorption verschiedener Mengen von Indol-3-essigsäure an Aluminiumoxydsäulen aus Alkohol und aus Benzol. Die Filtrate aus den Chromatogrammen sind frei von Wuchsstoff.

scheint danach geeignet, einen Hauptanteil, aber nicht die gesamte Menge des in benzolischer Lösung vorliegenden Wuchsstoffes aus dieser Lösung zu entfernen.

Daß die Indol-3-essigsäure aus Benzol ebenso wie aus Alkohol an die Aluminiumoxydsäule adsorbiert wird, geht aus den Ergebnissen des in Abb. 15 dargestellten Versuches hervor, bei dem verschiedene Mengen an Indol-3-essigsäure einerseits in alkoholischer, andererseits in benzolischer Lösung chromatographiert wurden, wobei sich zeigte, daß auch die relativ große Menge von 10 mg Indol-3-essigsäure je Säule (von etwa 100 mm Länge und 7 mm Querschnitt) aus beiden Lösungsmitteln vollständig adsorbiert wird.

Nach den bisher geschilderten Ergebnissen besteht also die Möglichkeit, aus alkoholischen Extrakten zunächst die Indol-3-essigsäure durch Adsorption an Aluminiumoxyd zu entfernen, diese daraus zu eluieren und zu bestimmen, sowie anschließend den Extrakt in Benzol oder in andere organische Lösungsmittel überzuführen und nun an Aluminiumoxyd oder anderen Adsorptionsmitteln neuerdings zu chromatographieren, wobei zu hoffen wäre, daß man vielleicht eine Auftrennung der verschiedenen wirksamen Nichtheteroauxine an *einer* Säule erzielen könnte.

D. Chromatographie des Fliederextraktes.

Alkoholische Extrakte aus Fliederblättern (Alkoholgehalt etwa 83%) wurden in gleicher Weise wie die alkoholischen Extrakte aus Sprossenkohl durch Aluminiumoxyd-(BROCKMANN)Säulen geschickt. Es zeigte sich hierbei, daß weder Wuchsstoffe noch Hemmstoffe an der Säule adsorbiert wurden: Aus den verschiedenen, auf Grund unterschiedlicher

Fluoreszenzfarben trennbaren Säulenabschnitten waren keine wirksamen Eluate zu gewinnen und die gesamte Wirksamkeit des Extraktes war im Filtrat aus der Säule wiederzugewinnen.

Es bietet sich damit die Möglichkeit an, die Wuchsstoffe der Heteroauxingruppe (Indol-3-essigsäure u. ä.) neben pflanzlichen Hemmstoffen vom Typus des Fliederextrakthemmstoffes durch Chromatographie aus alkoholischer Lösung an Aluminiumoxyd nachzuweisen und sie von diesen abzutrennen. Ein diesbezüglicher Versuch brachte die folgenden Ergebnisse:

Einer 100 g Syringa-Frischsubstanz entsprechenden Menge eines alkoholischen Extraktes (83%) aus Fliederblättern wurden 6 mg Indol-3-essigsäure zugesetzt und der Extrakt nacheinander durch drei 2,0/20 cm-Säulen mit Aluminiumoxyd (BROCKMANN) chromatographiert. Das Filtrat aus diesen Chromatogrammen wurde zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit Petroläther aufgenommen. Dann wurde diese Lösung durch zwei gleichgroße Säulen von Puderzucker geschickt. Die Elution der nach der Verschiedenartigkeit der Fluoreszenzfärbung getrennten Säulenabschnitte erfolgte in der bereits beschriebenen Weise. Die in der folgenden Tabelle 5 wiedergegebenen Testergebnisse beziehen sich auf je 2 g Paste, welche die eluierten Wirkstoffmengen enthielt. Befände sich die gesamte zugegebene Menge an Indol-3-essigsäure in 2 g Paste, so würde diese die Konzentration $3 \cdot 10^{-1}$% besitzen. Die Ergebnisse der Tabelle 5 zeigen nun, daß praktisch die gesamte Wuchsstoffwirkung in den 3 Aluminiumoxydsäulen adsorbiert wurde, während am Puderzucker fast ausschließlich Hemmstoffwirksamkeit adsorbiert blieb. Ein Teil von dieser ging in das letztlich verbleibende Filtrat über. Die Wuchsstoffwirksamkeit der einzelnen Eluate wurde durch Ablesung an einer Vergleichskurve für verschiedene Konzentrationen von Indol-3-essigsäure in entsprechenden Indol-3-essigsäure-Mengen ausgedrückt. Die Summe de in den einzelnen Abschnitten (1—9 der Al_2O_3-Säulen und 1 der Puderzuckersäule) gefundenen Wuchsstoffwirksamkeiten ergibt eine wiedergefundene Wuchsstoffmenge von 93%, so daß die Bilanz für Indol-3-essigsäure nahezu quantitativ verlaufen ist.

Ein zweiter Versuch mit analogem Ansatz und gleicher Durchführung brachte infolge Fehlens einer gleichzeitigen Eichkurve keine quantitativ bewertbare Bilanz, erwies sich qualitativ jedoch als mit dem ersten Versuch übereinstimmend. Die gesamte Wuchsstoffwirksamkeit war in den Abschnitten 1—9 der ersten beiden Al_2O_3-Säulen lokalisiert sowie auch in den drei obersten Schichten (1—12) der dritten Al_2O_3-Säule. Die letzten Schichten dieser Säule enthielten einen Großteil der Hemmstoffwirksamkeit, deren Rest sich in den Abschnitten 3—11 der beiden Puderzuckersäulen fand. Der Versuch an Hand einer Eichkurve, für Hemmstoff eine quantitative Bilanz aufzustellen, mißlang in vorliegendem Falle, da sich dabei anstatt 50 n nur insgesamt 1,83 n (vgl. Tabelle 5)

Tabelle 5. *Chromatographie eines Gemisches von Syringa-Extrakt + Indol-3-essigsäure* (in Pastenform 50 n und $3 \cdot 10^{-1}$%).
Versuch I (319/21). Auswertung für Hemmstoff nach Abb. 13.

Schicht-Nr.	Alkohol/Al_2O_3			Schicht Nr.	Petroläther/Zucker		
	Z-%	entsprechend 1-3-E (%)	%		Z-%	entsprechender Sy-Extrakt	%
1	+14,3	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$	0,09	1	+ 4,9	$1 \cdot 10^{-4}$	0,04
2	+70,3	$2{,}8 \cdot 10^{-2}$	9,3	2	−16,2	0,18n	—
3	+78,1	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	73,4	3	−11,3	0,16n	—
4	+59,9	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	5,3	4	− 7,3	0,13n	—
5	+ 5,9	$1 \cdot 10^{-4}$	0,04	5	− 6,4	0,11n	—
6	+22,1	$1 \cdot 10^{-3}$	0,33	6	−32,2	0,32n	—
7	+ 5,1	$1 \cdot 10^{-4}$	0,04	7	−19,6	0,20n	—
8	+12,3	$3 \cdot 10^{-4}$	0,10	8	−15,8	0,18n	—
9	+55,1	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	4,4	9	−19,3	0,20n	—
				10	−11,3	0,16n	—
Übertrag	—	$1 \cdot 10^{-4}$	0,04	Übertrag	—	—	—
Filtrat	—	—	—	Filtrat	−18,1	0,19n	—
Summe		$2{,}79 \cdot 10^{-1}$	93,04	Summe		1,83n	—

in den einzelnen Abschnitten nachweisen ließen. Es muß vorläufig unentschieden bleiben, ob das Fehlen einer gleichzeitigen Bestimmung einer Eichkurve diesen Umstand verursacht oder ob die Wirksamkeit der Hemmstoffe bei deren Trennung voneinander vermindert wird, wobei — im Hinblick auf einen im folgenden noch erwähnten Versuch — der ersteren Deutung mehr Wahrscheinlichkeit zukommt. Die beiden ersten Abschnitte der Puderzuckersäule zeigten eine geringe Wuchsstoffwirksamkeit, was schließen ließ, daß im Syringa-Extrakt neben der Hemmstoffkomponente noch eine geringe Menge eines nicht heteroauxinartigen Wuchsstoffes vorliegt. Für das Vorhandensein einer nicht heteroauxinartigen Wuchsstoffkomponente im Syringa-Extrakt (Petroläther/Zucker-Chromatogramm) spricht auch das Ergebnis des folgenden Versuches.

Tabelle 6. *Chromatographie von Syringa-Extrakt* [durch Adsorption an Aluminiumoxyd aus Alkohol (83%ig vorgereinigt)] *aus Petroläther an Puderzucker.* Werte in Z-% (+ = Förderung; — = Hemmung).

Säulenabschnitt Nr.	Testergebnisse (Z-%)	Wirkung entspricht
1	+ 3,8	—
2	−49,6	Hemmstoff
3	+14,3	(Wuchsstoff?)
4	+ 8,5	(Wuchsstoff?)
5	+11,3	(Wuchsstoff?)
6	−11,8	(Hemmstoff?)
Filtrat	−28,7	Hemmstoff

Eine 100 g Fliederblättern (frisch) entsprechende Menge von alkoholischem Extrakt wurde durch eine 2,0/20 cm-Säule Aluminiumoxyd (BROCKMANN) geschickt; das durchgelaufene Filtrat wurde abermals durch eine frische, gleiche Säule geschickt und das so erhaltene Filtrat wurde nun durch eine dritte, gleiche Säule laufen gelassen. Nach den Fluoreszenzfarben wurden die Säulen in insgesamt 11 Abschnitte aufgeteilt und

jeder Abschnitt für sich eluiert. Die Testungen der einzelnen Eluate (nach Neutralisation, Extraktion mit Alkohol und Überführung des Trockenrückstandes in Lanolinpaste) ergaben Werte, welche die Fehlergrenzen der Testmethode nicht überstiegen, und ließen so keinerlei Wirkung erkennen. Das Filtrat aus den drei Säulen wurde zur Trockne eingedampft, der Rückstand in Petroläther aufgenommen und nunmehr an einer Säule von Puderzucker (2,0/20 cm) chromatographiert. Die Säule wurde in 6 gleich lange Abschnitte zerteilt und zeigte nur im untersten Abschnitt (6) einen grünlichen, rotfluoreszierenden Farbstoff (wahrscheinlich Chlorophyll). Die Elution der einzelnen Abschnitte brachte die folgenden, in Tabelle 6 zusammengestellten Ergebnisse, welche zeigen, daß sich im Fliederextrakt anscheinend zweierlei verschiedene Hemmstoffe befinden, da deutlich zwei verschiedene Zonen mit Hemmstoffwirkung zu beobachten sind (Zone 2 und 6 sowie Filtrat), welche durch eine Zone allerdings recht geringfügiger Wuchsstoffwirkung getrennt erscheinen.

Die in den Säulenabschnitten 2 und 6 vorliegenden Hemmstoffmengen sowie die im Filtrat nachweisbare Menge an Hemmstoff ergeben zusammen, wie aus deren quantitativer Bestimmung an Hand der gleichzeitigen Eichkurve (vgl. Abb. 16) hervorgeht, die Summe von 100,2%, so daß auch hier mit kleinem Fehler eine Bilanz aufstellbar ist. In Abschnitt 2 liegen dabei 56,0% der gesamten Hemmstoffwirkung lokalisiert, in Abschnitt 6 16,0% und im Filtrat aus dem Chromatogramm 28,2%.

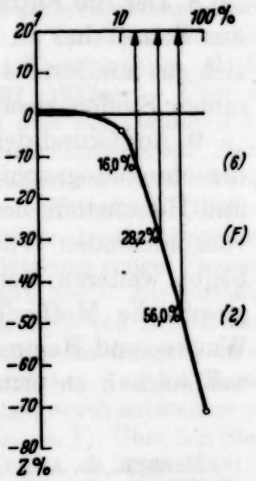


Abb. 16. Quantitative Bestimmung des Hemmstoffgehaltes der Säulenabschnitte 2 und 6 sowie des Filtrates aus dem Chromatogramm, dessen Werte aus Tabelle 6 ersichtlich sind.

Zusammenfassung.

1. Bei Verwendung von Alkohol als Lösungs- und Aluminiumoxyd als Adsorptionsmittel läßt sich Indol-3-essigsäure chromatographisch adsorbieren und aus einem Gemisch anderer Wuchsstoffe abtrennen.

2. Durch Eluieren mit verdünnter Alkalilauge, Neutralisation, Trocknen und Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel läßt sich die Indol-3-essigsäure aus den Säulenabschnitten zurückgewinnen.

3. Sprossenkohlextrakte ergeben bei gleichartiger Chromatographie zweierlei Wuchsstoff-Fraktionen: eine an Aluminiumoxyd adsorbierbare und eine die Säule ohne Adsorption durchlaufende.

4. Der an Aluminiumoxyd adsorbierbare Anteil der Wuchsstoffe des Sprossenkohlextraktes ergibt die Uroroseinreaktion und kann daher (wenigstens zum Teil) als Heteroauxin betrachtet werden.

5. Der an Aluminiumoxyd aus Alkohol nicht adsorbierte Wuchsstoff des Sprossenkohlextraktes kann aus Petroläther an Puderzucker (oder

$CaCO_3$) adsorbiert werden, trennt sich dabei in zwei wirksame Komponenten, deren eine anstatt negativer positive Krümmungen der *Avena-Koleoptile* bewirkt, trotzdem kein Überdosierungsphänomen vorliegt.

6. Bei Verwendung von Benzol als Lösungsmittel und Aluminiumoxyd als Adsorptionsmittel werden prinzipiell analoge Ergebnisse erhalten.

7. Der Hemmstoff des Fliederextraktes wird bei Chromatographie aus alkoholischer Lösung an Aluminiumoxyd nicht adsorbiert und kann zur Gänze im Filtrat aufgefunden werden.

8. Der (im Filtrat vorliegende) Hemmstoff des Fliederextraktes kann aus Petroläther an Puderzucker chromatographiert werden und erweist sich aus mindestens zwei chromatographisch trennbaren, hemmend wirksamen Stoffen zusammengesetzt.

9. Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse erscheint es aussichtsreich, die chromatographische Methode zur Untersuchung pflanzlicher Wuchs- und Hemmstoffe heranzuziehen und die verschiedenen, in den Pflanzen vorkommenden Wuchs- und Hemmstoffe voneinander zu trennen. Es bleibt weiteren Versuchen überlassen, festzustellen, ob die chromatographische Methode geeignet ist, eine quantitative Bestimmung von Wuchs- und Hemmstoffen in pflanzlichen Materialien bzw. Extrakten aus solchen zu ermöglichen.

Literatur.

BERGER, J., and G. S. AVERY: Isolation of an auxin precursor and an auxin (indole acetic acid) from Maize. Amer. J. Bot. **31**, 199 (1944). — BONNER, J., and G. S. WILDMAN: Contribution to the study of auxin physiology, Growth Sympos. **6**, 51 (1947). — BROCKMANN, H.: Die chromatographische Adsorption. Neue Methoden der präparativen, organischen Chemie, Bd. 1. S. 547, 1944. — DANDLIKER, W.: The isolation of 3-indoleaceticacid from immature corn. Calif. Inst. Technol. **1945**. — FUNKE, H.: Über den Nachweis kleiner Wuchsstoffmengen. Jb. Bot. **88**, 373 (1939). — FUNKE, H., u. H. SÖDING: Über das Wuchsstoff-Hemmstoffsystem der höheren Pflanze. Forschgn u. Fortschr. **21/23**, 220 (1947). — Planta (Berl.) **36**, 341 (1948). — GORDON, S. A., u. F. SANCHEZ-NIEVA: Die Biosynthese von Auxin in der vegetativen Ananas. I. Die Natur des aktiven Auxins. Arch. Biochem. **20**, 356 (1949). — GORDON, S. A., u. SANCHEZ-NIEVA: Die Biosynthese von Auxin in der vegetativen Ananas. II. Die Vorstufen der Indolessigsäure. Arch. Biochem. **20**, 367. — GUTTENBERG, H., u. E. LEHLE-JOERGES: Über das Vorkommen von Auxin und Heteroauxin in ruhenden und keimenden Samen. Planta (Berl.) **35**, 281 (1947). — HAAGEN-SMIT, A. J., W. D. LEECH and W. R. BERGREN: Estimation, isolation and identification of auxin in plant materials. Amer. J. Bot. **29**, 500 (1942). — KAINDL, K.: Zur Wirkungsweise von Wuchs- und Hemmstoffen II. Versuche einer trefferstatistischen Deutung der Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen. Biochimica et biophysica Acta **6**, 395 (1951). — KÖGL, F., u. A. J. HAAGEN-SMIT: Über die Chemie des Wuchsstoffs. Proc. Acad. Wetensch. Amsterdam **34**, 1411 (1931). — KÖGL, F., A. J. HAAGEN-SMIT u. H. ERXLEBEN: Über ein Phytohormon der Zellstreckung. Reindarstellung des Auxins aus menschlichem Harn. Z. physiol. Chem. **214**, 241 (1933). — Über ein neues Auxin (Heteroauxin) aus Harn. Z. physiol. Chem. **228**, 90 (1934). — KÖGL, A. F., J. HAAGEN-SMIT u. C. J. VAN

HULSSEN: Über den Einfluß unbekannter Faktoren bei Versuchen mit *Avena sativa*. Z. physiol. Chem. **241**, 17 (1936). — KRAMER, M., and F. W. WENT: The nature of the auxin in tomato stem tips. Plant Physiology **24**, 207 (1947). — KUHN, R., u. H. BROCKMANN: Bestimmung von Carotinoiden. Z. physiol. Chem. **206**, 41 (1932). — KULESCHA, Z.: Use of trypsin for extraction of plant-growth substances from plant truncs. C. r. Soc. Biol. Paris **142**, 931 (1948). — LARSEN, P.: 3-indole-acetaldehyde as a growth hormone in higher plants. Dansk. bot. Ark. **11**, 1 (1944). — Neutral auxins. Nature (Lond.) **159**, 842 (1947). — LEFÈVRE, J.: Sur la présence normale d'acides indoliques et particulièrement de l'acide indol-3-acétique dans diverses plantes supérieurs. C. r. Acad. Sci. Paris **206**, 1675 (1938). — Der Gehalt verschiedener Pflanzenteile an Indol-3-essigsäure. C. r. Soc. Biol. Paris **130**, 225 (1939). — LINSER, H.: Zur Methodik der Wuchsstoffbestimmung. Planta (Berl.) **28**, 227 (1938). — Arbeiten der Landwirtschaftlichen Versuchsstation Limburgerhof, 1939, S. 128. — Zur Methodik der Wuchsstoffbestimmung. II. Die Extraktion von Pflanzenmaterial. Planta (Berl.) **29**, 392 (1939a). — Über das Vorkommen von Hemmstoff in Pflanzenextrakten sowie über das Verhältnis von Wuchsstoffgehalt und Wuchsstoffabgabe bei Pflanzen oder Pflanzenteilen. Planta (Berl.) **31**, 32 (1940). — Über den Einfluß von Pflanzenextrakten auf das Streckungswachstum, Wurzel- und Sproßbildung bei Pflanzen. Österr. bot. Ztg **95**, 95 (1949). — Beobachtungen zur Jahresperiodik der Wachstumskorrelationen bei Keimlingen von *Avena sativa*. Phyton **2**, 92 (1950a). — Die zellstreckende Wirkung einiger Phenoxyessigsäurederivate im Pastentest. Protoplasma (Wien) **1950** b, 358. — Zur Wirkungsweise von Wuchs- und Hemmstoffen. I. Wachstumswirkungen von Indol-3-essigsäure und Eosin sowie pflanzlicher Wuchs- und Hemmstoffe im Gemisch an der *Avena-Koleoptile*. Biochimica et biophysica Acta **6**, 384 (1951). — LINSER, H., and K. KAINDL: A contribution to the mode of action of the growth-substances and growth-inhibitors. Science (Lancaster, Pa.) **1951**. — MOEWUS, F.: Über den Stand der Erforschung pflanzlicher Wuchsstoffe. Angew. Chem. A **60**, 336 (1948). — Gebundener und freier Wuchsstoff in der Kartoffelknolle. Z. Naturforschg **3** b, 135 (1948a). — Ein neuer quantitativer Test für pflanzliche Wuchsstoffe. Naturwiss. **35**, 124 (1948b). — ROBORGH, J. R., u. J. B. THOMAS: Studien über die Synthese von Wuchsstoffen. Proc. Kon. nederl. Akad. Wetensch. **51**, 87 (1948). — Studien über die Synthese von Wuchsstoffen. Arch. Biochem. **20**, 356 (1949). — TSWETT, M.: Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls. Ber. dtsch. bot. Ges. **24**, 384 (1906). — Die Chlorophylle in der Pflanzen- und Tierwelt. Warschau 1910. (Russ.). — VELDSTRA, H., and E. HAVINGA: On the physiological activity of unsaturated lactones. Enzymologia **11**, 373 (1943/45). — VOSS, H.: Nachweis des inaktiven Wuchsstoffs, eines Wuchsstoffantagonisten und dessen wachstumsregulatorische Bedeutung. Planta (Berl.) **30**, 252 (1939). — WEISS, M.: Die Entstehung des Magenkrebses durch Indol und Indolderivate der Eiweißfäulnis. Wien. klin. Wschr. **1947**, 40. — WENT, F. W.: Wuchsstoff und Wachstum. Rec. Trav. bot. néerl. **25**, 1 (1928). — WILDMAN, S. G., and BONNER: The chemical nature and formation of auxin in the Avena coleoptile. Amer. J. Bot. **35**, 740 (1948). — WILDMAN, S. G., and L. M. MUIZ: Observations on the mechanism of auxin formation in plant tissues. Plant Physiology **24**, 84 (1949). — ZECHMEISTER u. CHOLNOKY: Die chromatographische Adsorptionsmethode, 2. Aufl. Wien: Springer 1938.

Privat-Dozent Dr. HANS LINSER, Linz (Österreich), Landstr. 115.

Planta, Bd. 39, S. 402—430 (1951).

Aus dem Institut für Allgemeine Botanik der Universität Jena.

ÜBER DIE MÖGLICHKEITEN DER PERIKLINALCHIMÄRENBILDUNG BEI GRÄSERN.

Von

CHARLOTTE THIELKE.

Mit 20 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Februar 1951.)

A. Einleitung.

Im Zusammenhang mit den Fragen nach der Natur der Periklinalchimären läßt sich ganz allgemein sagen, daß diese nur an solchen Phanerogamen auftreten können, die einen Vegetationspunkt mit geschichtetem Bau besitzen. Für die Gymnospermen schien diese Voraussetzung zunächst nicht zuzutreffen; und tatsächlich sind bisher für die Nacktsamigen als panaschierte Pflanzen nur Sektorialchimären beschrieben worden (KÜSTER 1919). Die Gräser sollten nun insofern auch einen Grenzfall darstellen, als sie nach den genauen Untersuchungen der Schüler BUDERS (RÖSLER 1928; KLIEM 1936) einen mit nur einschichtiger Tunica versehenen Vegetationspunkt hätten. Bei einem solchen Bau ist die Möglichkeit zur Entstehung von haplochlamydischen Periklinalchimären zwar ohne weiteres gegeben; man muß sich nur darüber klar sein, daß eine solche Struktur, vor allem bei weißbunten Pflanzen, nur dann erkennbar ist, wenn die Außenkomponente außer der Epidermis noch weiteres Gewebe hervorbringt und bei Blättern etwa Teile des Mesophylls erzeugt. Dazu muß gefordert werden, daß am Aufbau desjenigen Organs, das Chimärenbau zeigen soll, auch die Innenkomponente teilnimmt. Außerdem sollte man bedenken, daß bei der Wachstumsweise des parallelnervigen Monocotylenblattes die Periklinalchimärenstruktur des Stengels hier am Blatt in Form einer scheinbar sektorialen Gewebeverteilung, meistens als Randstreifigkeit erscheinen wird, wie es für *Chlorophytum*, *Funkia* u. a. gezeigt werden konnte (RENNER 1936b, THIELKE 1948a). Für die Blätter von *Triticum* konnte nun in einer der oben erwähnten Arbeiten (RÖSLER 1928) nachgewiesen werden, daß sie vorwiegend, wenn nicht ausschließlich, dermatogenen Ursprungs sind. Für *Avena* gilt das dagegen nur bedingt. Hier dürfte also eine eventuell vorhandene Periklinalchimärenstruktur zumindestens in den Blättern kaum vorkommen.

Diese sehr klaren, aber doch nur auf wenige Arten ausgedehnten Arbeiten haben nun vielfach in zusammenfassenden Darstellungen, Lehrbüchern u. a. zu einer Verallgemeinerung in der Weise geführt, daß der Bau des Scheitels mit einschichtiger Tunica und die rein epidermale

Entstehung der Blätter für die ganze Familie der Gramineen Gültigkeit haben sollten. Aus diesem Grunde deutet auch RENNER (1936a, S. 245) die durch das Vorhandensein von zweierlei Plastiden entwicklungsmechanisch bedingte Panaschüre bei Gräsern als dem Status albomaculatus entsprechend, der hier in Form einer Buntstreifigkeit erscheint, und lehnt periklinalchimärischen Bau wenigstens für *Triticum*, *Avena* und *Secale* ab.

Inzwischen hat sich an einem ganz anderen Beispiel gezeigt, wie vorsichtig man sein muß, wenn man eine für einige Pflanzen erkannte histologische Struktur auch für andere aus dem gleichen Verwandtschaftskreis annimmt. Arten der gleichen Gattung und vielleicht auch Varietäten der gleichen Art können nach BUDER (1928) unterschiedliche Schichtungen am Scheitel aufweisen. So gelang unter den Gymnospermen bei *Ephedra fragilis var. campylopoda* die Entdeckung eines Vegetationskegels mit echter einschichtiger Tunica (SEELIGER 1944). Man wird schließlich doch die Entwicklungsgeschichte jeder einzelnen Form studieren müssen.

In der älteren Literatur hat zwar HANSTEIN (1868) seine 3 Histogene auch bei *Brachypodium* und *Zea mays* gefunden und auch DOULIOT (1890) deckte sie bei *Phragmites communis* und *Baldingera arundinacea* auf; er glaubte noch, daß jedes Histogen nur eine Scheitelzelle besäße. Später aber widerruft DOULIOT (1891) seine für die Gramineen geäußerte Meinung, und er gilt heute als derjenige, der die Bedeutung des Dermatogens für die Entwicklung des Grasblattes zuerst erkannt hatte, trotzdem er auch die Blattentwicklung auf die Tätigkeit von nur einer Scheitelzelle zurückführte. KORSCHELT (1884) fand an der Spitze des Scheitels aller von ihm untersuchten Pflanzen (von den Gräsern waren es *Eulalia japonica*, *Saccharum officinarum*, *Festuca rubra*, *Festuca capillifolia*, *Panicum plicatum*) je eine Scheitelzelle. Dagegen stellte GROOM (1885) bei den Phanerogamen immer das Vorhandensein mehrerer Histogene fest. Bei den Gräsern *Panicum plicatum* und *Festuca spec.* war er (S. 309) allerdings im Zweifel, ob „ein wirkliches Periblem und Plerom im Sinne HANSTEINS vorhanden ist oder nicht". Weiter ließen die Unterschiede in der Histogenese der Blätter von Weizen, wo sie nach RÖSLER rein epidermal entstehen, und Hafer, wo auch subepidermales Gewebe an ihrer Bildung beteiligt ist (KLIEM), eine erneute Untersuchung der Gräser in dieser Hinsicht notwendig werden.

Beobachtungen an den beiden hier im Jenaer Botanischen Garten vorhandenen panaschierten Gräsern *Phalaris arundinacea var. picta* und *Oplismenus imbecillis var. variegatus*, deren Buntheit entwicklungsmechanisch bedingt zu sein schien, und die schon früher kurz gebrachte Darstellung eines Grases mit zweischichtiger Tunica führten ebenfalls zu weiteren histologischen Untersuchungen.

Zur Bearbeitung gelangten außer den beiden erwähnten vorwiegend kräftiger gebaute Arten. Für solche Untersuchungen sind die Gramineen wegen ihrer zweizeiligen Blattstellung relativ günstige Objekte, da sie so eine gute Orientierung für mediane Längsschnitte ermöglichen. Es sei aber darauf hingewiesen, daß diese für Keimpflanzen noch zutreffende Zweizeiligkeit an älteren Pflanzen oft durch Torsion verlorengehen kann. Die Ergebnisse wurden an medianen Längsschnitten der Vegetationskegel bzw. der Blattanlagen gewonnen. Dabei sollte festgestellt werden, wieviel selbständige Histogene jeweils am Scheitel vorhanden und wieviel an der Blattbildung beteiligt sind. Auf die Darstellung der Blattentwicklung im einzelnen konnte in diesem Zusammenhang verzichtet werden. Obwohl bei den hier untersuchten Pflanzen ein ausgeprägter Formenwechsel des Vegetationspunktes nicht stark in Erscheinung trat und deshalb Änderungen im zahlenmäßigen Verhältnis der Schichten zueinander nicht zu erwarten waren, wurden möglichst viele Entwicklungsphasen während eines Plastochrons beobachtet. Die im folgenden mitgeteilten Ergebnisse stammen mit wenigen Ausnahmen aus etwa 20—30 Längsschnittserien. Zur Ergänzung wurden von allen Arten auch einige Querschnittserien hergestellt. Die Schnittdicke betrug in allen Fällen 5 μ. Auf eine alleinige Anfärbung der Zellmembranen wurde verzichtet, da die Ausdifferenzierung von Kern und Plasma durch Hämatoxylin die Vorteile brachte, daß man häufig an der Gleichartigkeit der Plasmatinktion und den gleichen Kernphasen benachbarter Zellen diese als Abkömmlinge einer gemeinsamen Mutterzelle erkennen konnte. Und das war in allen den Fällen wichtig, in denen allein nach der Lage der Zellgrenzen die histogenetischen Zusammenhänge zweifelhaft erschienen. Eine zusätzliche Membranfärbung fällt, besonders im embryonalen Gewebe, dann allerdings sehr wenig auf.

B. Die Analyse der einzelnen Objekte.

1. Phragmites communis TRIN.

Phragmites communis wird schon in der ersten Arbeit über Phanerogamenvegetationspunkte von DOULIOT (1890) erwähnt. Seine allerdings an Handschnitten gewonnenen Ergebnisse standen offensichtlich noch unter dem Einfluß der HANSTEINschen Lehre. Er gibt 3 selbständige Histogene an: 1. die Epidermis, 2. die Subepidermale, aus der die Rinde und 3. ein Binnengewebe, aus dem der Zentralzylinder hervorgehen soll. Alle 3 Schichten sollen mit je einer selbständigen Scheitelzelle wachsen. Später widerruft er seine bezüglich der Gramineen geäußerte Ansicht und legt wieder am Beispiel *Phragmites* mit Hilfe von theoretischen Zeichnungen dar, wie man durch Nachlässigkeiten beim Zeichnen und Beobachten, durch kleine Begradigungen oder Inkorrektheiten zu einer Linienführung gelangen kann, die die eine oder andere Deutung zuläßt;

und das kann auch bei der von ihm genannten Schnittdicke von 50 μ leicht der Fall gewesen sein. DOULIOT korrigiert sich nun dahingehend, daß er bei den 10 von ihm untersuchten Gräsern ein selbständiges Dermatogen und eine subepidermale Scheitelzelle, die Rinde und Zentralzylinder den Ursprung gibt, findet. Die Blätter sollen aus dem Dermatogen allein entstehen, aber nur mit einer Scheitelzelle wachsen.

Die hier mitgeteilten Befunde entsprechen durchaus der ersten Ansicht DOULIOTs, und auch seine Abbildungen (1890, Pl. 14, Fig. 1 und 1891, Pl. 3, Fig. 1) zeigen im Prinzip ganz ähnliche Verhältnisse, nur daß die Gipfel meines Materials vielzelliger waren. Die Bezeichnung der für jede Schicht jeweils terminalen Zelle als Scheitelzelle scheint dagegen doch mehr oder weniger willkürlich vorgenommen worden zu sein.

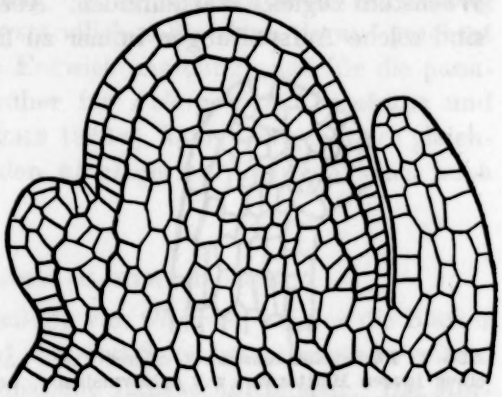


Abb. 1. *Phragmites communis*, Vegetationskegel mit zweischichtiger Tunica im Längsschnitt, 300×.

Die medianen Längsschnitte lassen deutlich einen geschichteten Bau des Vegetationskegels erkennen (Abb. 1). Am Scheitel selber sind 2 periphere selbständige Zellagen vorhanden, deren Zellen im oberen Teil des Vegetationspunktes etwa in tangentialer Richtung gestreckt sind; weiter abwärts im Bereich der Blattanlagen sind sie in der Längsrichtung kurz, aber senkrecht zur Oberfläche gestreckt. Sie zeigen am Scheitel niemals eine Aufspaltung in perikliner Richtung und entsprechen deshalb einer echten zweischichtigen Tunica. Eine dritte Zellage ist in geschlossener Form nicht vorhanden, alles Gewebe innerhalb dieser Tunica gehört also dem Korpus an.

Die Blattentwicklung beginnt zunächst mit vereinzelten periklinen Zellteilungen in der Subepidermalen. Wenig später erscheinen solche auch in der äußeren Lage, und wenn das Primordium sich schon als kleiner Buckel vorwölbt, dann sind die beiden Tunicaschichten in etwa gleichem Maße daran beteiligt. Ein Eintritt des Korpus in die Blattanlage konnte nirgends festgestellt werden. Das Vorkommen von tangential eingezogenen Zellwänden in der Subepidermalen gerade an dem Ort, an dem später die Blattanlage erscheint, deutet ja darauf hin, daß die Abkömmlinge dieser Zellschicht auch am Blattaufbau beteiligt sind, und das ist in zahlreichen Fällen vor allem dann mit Sicherheit nachgewiesen worden, wenn das Dermatogen kein Mesophyll bildet. In den von DOULIOT dargestellten Figuren (1891, Pl. 3, Fig. 5 und 6) hat es allerdings den Anschein, als ob er nicht allein die Medianschnitte junger

Blattanlagen, sondern vorwiegend Anschnitte der als Ringwulst hervortretenden Scheidenregion berücksichtigt; und auch hier sieht die Linienführung, die epi- und subepidermale Lage voneinander trennt, recht willkürlich aus. Wie sich das Verhältnis der Abkömmlinge beider Tunicaschichten zueinander während des Wachstums eines Blattes gestaltet, ist nicht leicht zu erkennen. Sicher läßt sich jedoch noch eine starke Teilungstätigkeit der Epidermis nachweisen, die vor allem an der Blattspitze der jüngeren Blätter sehr deutlich ist, wie es Abb. 2 zeigt. So scheint anfangs ein kräftiges Spitzenwachstum neben dem interkalaren Wachstum zugleich stattzufinden. Aber auch an den seitlichen Rändern sind solche Aufspaltungen immer zu finden. Wenn allerdings mit dem

Abb. 2. *Phragmites communis*, oberer Teil einer jungen Blattanlage mit epidermalem Spitzenwachstum, längs, 300 ×.

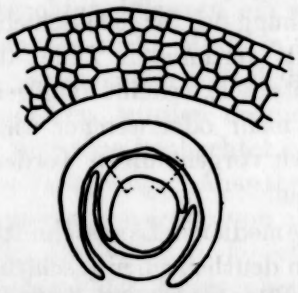


Abb. 3. *Phragmites communis*, junge Blattanlage im Querschnitt. Die Epidermis spaltet auf der Blattfläche periklin auf, 300 ×.

Erscheinen der ebenfalls rein epidermalen Ligula (Abb. 5a, b) die Trennung in Ober- und Unterblatt vollzogen ist, dann ist das Randwachstum der Epidermis, aus dem ein zweischichtiger Hautsaum resultiert, wieder nur auf das Unterblatt und die Ligula beschränkt, die ja als eigentliche Spitze der Scheide mit ihr in direktem Zusammenhang steht und somit den oberen Abschluß dieser Randwachstumszone bildet. Das ist schon früher für *Dactylis glomerata* und einige Liliaceen geschildert worden (THIELKE 1948b). Außerdem kommen, allerdings nur an jüngeren Blättern, einzelne Aufspaltungen der Epidermis in perikliner Richtung auf der Blattfläche außerhalb der Randzone vor (Abb. 3).

Eine andere Frage bleibt, ob die Deszendenten von Teilungen der subepidermalen nur in die Blattanlage eintreten oder sich auch am Aufbau der Sproßachse beteiligen. Auf einigen Schnitten sieht es so aus, als habe hier auch unterhalb der Blattanlage eine Aufspaltung, zumindestens eine Verdoppelung der zweiten Tunicaschicht stattgefunden. Die Analyse von eventuell vorkommenden Chimären könnte hier sehr nützlich werden.

Grundsätzlich läßt sich also die Frage nach der Möglichkeit von Chimärenbildung für *Phragmites* bejahen; und eine solche müßte, falls sie etwa in Form einer haplochlamydischen weißbunten Panaschüre aufträte, sich auch an den Blättern nachweisen lassen, da zu deren Bildung

2 Komponenten von histogenetischer Selbständigkeit zusammentreten. Bei der Wachstumsweise dieser Blätter müßte das Randmesophyll der Beschaffenheit der Außenkomponente entsprechen. Mit dem Auftreten von Gewebestreifen, die dem Rande gleichen, ist auch auf der Blattfläche zu rechnen, da die epidermalen Teilungen, die sich vor allem auf der Blattunterseite in den Querschnittserien nachweisen lassen, solche zur Folge haben müßten. Panaschiertes Material von *Phragmites* stand leider nicht zur Verfügung, soll aber existieren (RENNER 1936a, S. 245). Und es wäre bei entwicklungsmechanisch bedingter Buntheit wichtig, an solchem Material nachzuprüfen, ob die hier gegebene Darstellung sich bestätigen würde. Selbstverständlich sollte dann darauf geachtet werden, ob der hier geschilderte Entwicklungsgang auch für die panaschierte Form gilt, denn wie früher für *Pelargonium*, *Sambucus* und *Dracaena* mitgeteilt wurde (THIELKE 1948a), kann sich genetisch gleichartiges Gewebe in den verschieden überlagerten Kombinationen auch verschieden verhalten.

2. *Glyceria maxima* (HARTM.) HOLMB.

Die streng zweizeilige Blattstellung von *Glyceria*, bei der die Blätter nach innen eingewinkelt sind und mit den Scheiden aufeinander reiten, erleichtert die Orientierung für mediane Längsschnitte sehr. Die Morphologie der Knospe hat GOEBEL (1884, S. 217) ausführlich beschrieben. DOULIOT (1891) stellte das Vorhandensein eines Dermatogens und einer für Rinde und Zentralzylinder gemeinsamen Scheitelzelle fest. Der Vegetationskegel ist hier sehr flach und breit gebaut (Abb. 4). Seine Zellen sind erheblich größer als die von *Phragmites*. Auch hier ist eine zweischichtige Tunica immer vorhanden. Die äußere Zellschicht hat wieder flache, tangential gezogene Zellen, während die der inneren radial gestreckte, zylindrische Gestalt haben und knapp doppelt so hoch sind. Die Blattbildung beginnt mit mehreren periklinen Zellteilungen in der subepidermalen Lage sehr nahe am Scheitel. In der Außenschicht beginnen die entsprechenden Teilungen erst später, sind aber in der Spitze des jungen Blattes in ähnlicher Weise nachweisbar wie bei *Phragmites*. Auch auf der Blattfläche kommen epidermale Aufspaltungen in einiger Entfernung vom Blattrand vor. Die Ligula entsteht zunächst epidermal, aber auch in der Subepidermalen beginnt regelmäßig nach der ersten Vorwölbung eine Teilungstätigkeit (Abb. 5c, d), die zu einem zapfenförmigen Gewebehöcker führt, der der vorgetriebenen und aufgespaltenen Epidermis folgt und dadurch in den basalen Teil der Epidermis eintritt. Die Vermutung von GOEBEL (1884, S. 218), daß es sich hierbei um eine Wucherung der Epidermis allein handelt, trifft also wenigstens für unser Material nicht zu. TRÉCUL (1878, S. 1008) beschreibt zwar auch das erste Auftreten der Ligula bei *Glyceria*, gibt aber nichts über ihre histologische

Herkunft an. Als Grenze zwischen Ober- und Unterblatt bildet die Ligula wieder gleichzeitig von ihrem ersten Erscheinen an die Grenzlinie

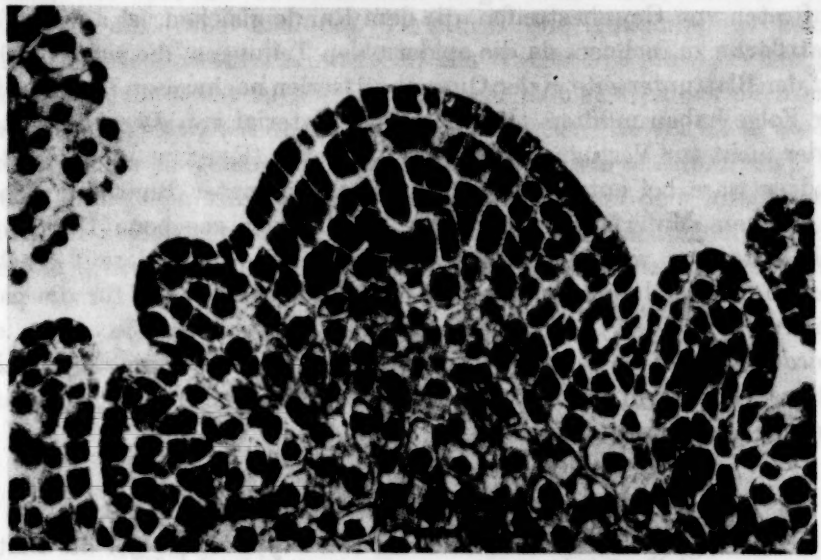


Abb. 4. *Glyceria maxima*, Vegetationskegel längs, die zweite Tunicaschicht spaltet zur Blattbildung rechts auf.

zwischen der verschiedenartigen Differenzierung des Randgewebes. Nur im Bereich des Unterblattes gibt es epidermales Randwachstum, das an

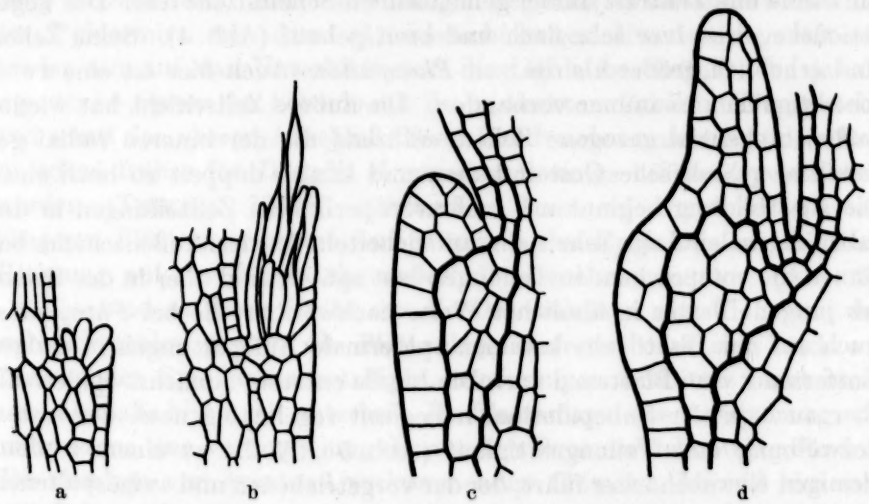


Abb. 5 a—d. a und b *Phragmites communis*, Entwicklung der epidermalen Haarkranzligula; c und d *Glyceria maxima*, Entwicklung der Ligula unter Beteiligung der subepidermalen Schicht, 300 ×.

den zweischichtigen Hautsäumen zu erkennen ist, die aber bald zur geschlossenen Scheide zusammentreten. Die jüngeren, noch nicht in

Scheide und Spreite gegliederten Stadien lassen ihre Randzone wegen der gegen den Scheitel noch stark gekrümmten Form ihrer Spitze in Querschnitten leider nicht erkennen. Ein zweischichtiger Hautsaum ist jedenfalls nicht vorhanden.

Es läßt sich also feststellen, daß auch an der Blattbildung von *Glyceria maxima* 2 Gewebekomponenten beteiligt sind, die, falls sie sich voneinander unterscheiden sollten, eine Chimäre liefern könnten, die unter Umständen auch an der Ligula erkennbar wäre.

3. *Dactylis glomerata* L.

In der Darstellung von DEINEGA (1898, S. 422) ist die Morphologie der Blattentwicklung bei *Dactylis glomerata* bereits geschildert worden.

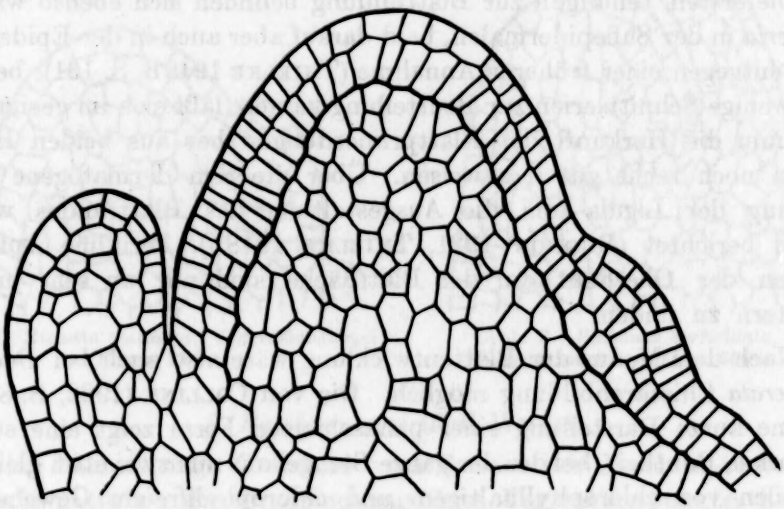


Abb. 6. *Dactylis glomerata*, Vegetationskegel mit zweischichtiger Tunica im Längsschnitt, 300 ×.

Die Knospenlage der Blätter ist genau so wie bei *Glyceria maxima*. Die von DEINEGA in seine Fig. 1, S. 443 eingezeichneten Zellen sind wahrscheinlich nur als schematisch gegeben zu verstehen. Es ist aber trotzdem bemerkenswert, daß er in die jüngste Blattanlage hinein 2 periphere Zellschichten zeichnet, wobei sich auch die innere deutlich in den Primordialhöcker hinein vorwölbt. Der Vegetationskegel hat wie bei *Glyceria* auch eine ziemlich breite Basis, läuft aber nach oben etwas schlanker aus (Abb. 6). Die Zellen sind außen wieder zu 2 Schichten angeordnet, die sich besonders durch die zylindrisch gestreckte Form der zweiten Lage sehr scharf gegenüber dem Korpusgewebe abheben. Von *Dactylis* kamen nur 17 Längsschnittserien zur Untersuchung, die mit einer Ausnahme alle in den wesentlichen Zügen einander gleich waren, alle zeigten eine deutlich ausgebildete zweischichtige Tunica.

Einmal aber ließ sich im medianen Längsschnitt genau in der Mitte der zweiten Mantellage eine periklin eingezogene Zellwand erkennen. Bei dem vorhandenen Material ist es natürlich schwer, zu entscheiden, ob eine solche Teilung sehr selten ist oder ob sie vielleicht vereinzelt hier und da vorkommen kann. Etwas Ähnliches beschreibt SCHMIDT (1924, S. 367) bei *Syringa vulgaris*. Dort wurde die Aufteilung der zweiten Tunicalage als in der Phase der Maximalfläche häufiger vorkommend bezeichnet. Von den anderen untersuchten Vegetationskegeln von *Dactylis glomerata*, von denen sich auch einige in der gleichen Plastochronphase befanden, deutet gar nichts darauf hin, was als Folge einer ähnlichen Zellteilung anzusehen wäre. Mir ist es vorläufig noch wahrscheinlicher, daß hier eine abnormale Struktur vorgelegen hat.

Die ersten Teilungen zur Blattbildung befinden sich ebenso wie bei *Glyceria* in der Subepidermalen, bald darauf aber auch in der Epidermis. Und entgegen einer früheren Annahme (THIELKE 1948b, S. 161), bei der nur wenige Schnittserien zur Beurteilung kamen, läßt sich im geeigneten Stadium die Herkunft des Blattprimordialgewebes aus beiden Histogenen noch recht gut nachweisen. Über die rein dermatogene Entstehung der Ligula und die Ausgestaltung des Blattrandes wurde schon berichtet (BUGNON 1921, THIELKE 1948b). Perikline Aufspaltungen der Oberhaut auf der Blattfläche sind nur an sehr jungen Blättern zu finden.

Nach dem Modus der Blattentwicklung wäre also auch bei *Dactylis glomerata* Chimärenbildung möglich. Die von COLLINS (1922, S. 8) gegebene kurze Darstellung einer panaschierten Form zeigt eine streng sektoriale Buntheit, bei der der ganze Stengel aus nur zwei etwa gleichen Anteilen von chlorophyllhaltigem und chlorophyllfreiem Gewebe zusammengesetzt ist. Bei der oben dargelegten Struktur des Vegetationskegels sollte eine solche Gliederung bei länger andauerndem Wachstum doch einmal die periklinale Form erreichen, die bei allen Pflanzen mit geschichtetem Scheitel schließlich als stabiler Endzustand aufzutreten pflegt. Sollten die eben erwähnten Teilungen der zweiten Tunicaschicht häufiger sein, dann würde das bei diplochlamydischen Periklinalchimären leicht zu Rückschlägen zur Mantelkomponente führen.

4. Zizania miliacea MICHX.

Hier stand leider nur sehr wenig Material zur Verfügung. Die im folgenden mitgeteilten Tatsachen stammen nur aus 6 Längsschnitt- und 1 Querschnittserien, die glücklicherweise alle verschiedene Stadien des Plastochrons zeigten. Der Vegetationspunkt ist bei *Zizania* schmaler und die embryonalen Zellen sind erheblich kleiner als es bei *Glyceria* und *Dactylis* der Fall war. Überall ist eine echte zweischichtige Tunica

festzustellen (Abb. 7), die aus gleichartigen, etwas tangential gestreckten Zellen besteht. Die Blattentwicklung beginnt mit einer regeren Teilungstätigkeit in antikliner Richtung beider Mantelschichten, der dann eine etwa gleichzeitig einsetzende Aufspaltung in der Periklinen folgt. Daß auch subepidermales Gewebe in den Höcker des jungen Blattes eintritt, ist sicher; die Ligula dagegen entsteht nur aus der Epidermis. Die Querschnitte lassen wieder die üblichen Unterschiede in der Ausbildung des Unterblattrandes mit zweischichtigem Hautsaum und des Oberblattrandes ohne epidermales Randwachstum erkennen.

Auch bei *Zizania miliacca* sind somit 2 histogenetich selbständige Elemente am Blattaufbau beteiligt.

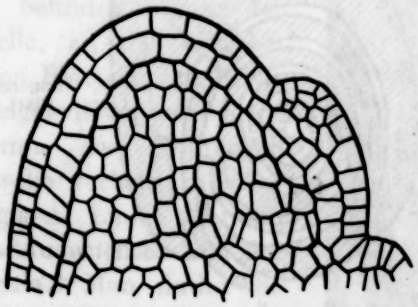


Abb. 7. *Zizania miliacea*, Vegetationskegel längs, 300 ×.

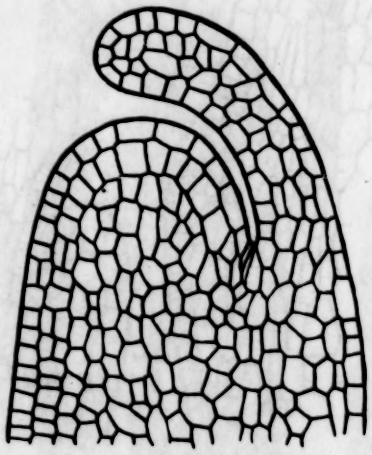


Abb. 8. *Bambusa verticillata*, Vegetationskegel längs, 300 ×.

5. *Bambusa verticillata* Willd[1].

Eine baumförmige Graminee vom Format der *Bambusa verticillata* forderte natürlich die Untersuchung ihres Vegetationspunktes heraus. Nach unseren bisherigen Erfahrungen sieht es allerdings nicht so aus, als stehe die Größe einer Pflanze in irgendeiner Beziehung zur Struktur ihres Vegetationskegels, etwa der Zahl der selbständigen Schichten, da die großen *Bambusa*-Arten aber ein Extrem der ganzen Familie darstellen, schien eine Analyse doch lohnend zu sein. Für die vorliegende Untersuchung konnten allerdings nur Seitenzweige geerntet werden, wichtig wäre natürlich auch ein Vergleich mit der Hauptachse wegen der beträchtlichen Unterschiede im Umfang. *Bambusa verticillata* gehört zu den Pflanzen, die zwar eine streng zweizeilige Blattstellung haben, jedoch nicht die dabei übliche $^1/_2$ Divergenz aufweisen. Die beiden Blattzeilen stehen so zueinander, daß sie auf der einen Seite einen Winkel von etwa 160°, auf der anderen einen von 200° einschließen.

[1] *Bambusa verticillata* war im Botanischen Garten der Universität Halle vorhanden. Ich danke den Herren Prof. Dr. J. Buder und Prof. Dr. H. Meusel vielmals für die freundliche Überlassung des Materials.

Diese Abweichung von der $^1/_2$ Divergenz ist zwar nicht sehr stark, mußte aber doch bei der Orientierung der Längsschnitte beachtet werden. Zur Beurteilung von Schnitten, die median durch Vegetationspunkt und Blattanlagen gehen sollen, kann hier natürlich nur die eine Blattzeile berücksichtigt werden.

Das Korpus des nicht sehr großen, schlank gebauten Vegetationskegels (Abb. 8) wird von einer zweischichtigen Tunica umschlossen.

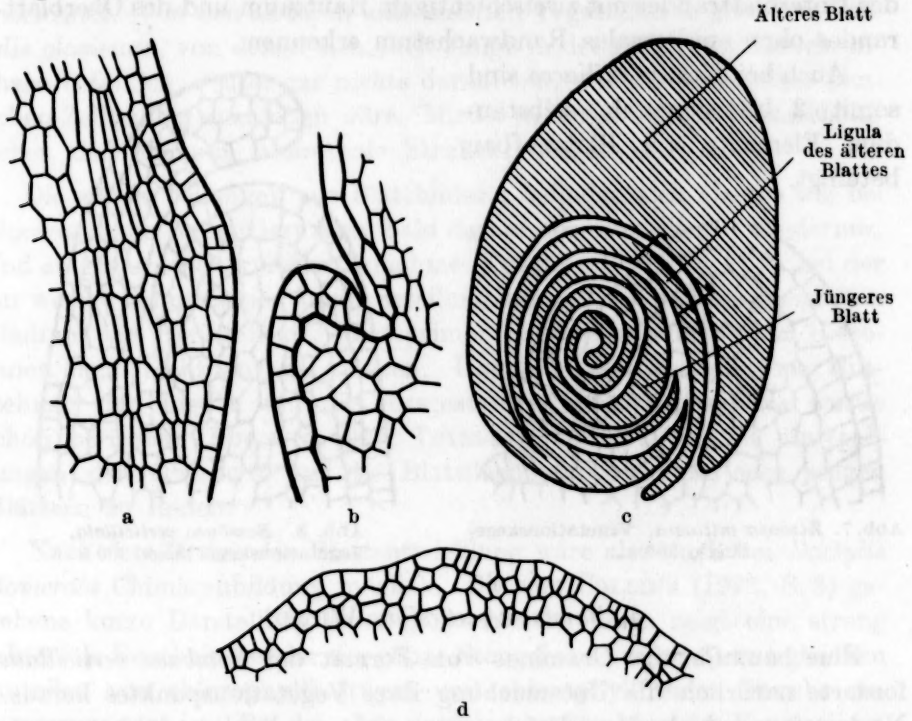


Abb. 9 a—d. *Bambusa verticillata*, Entwicklung der Ligula. a und b Anteilnahme subepidermalen Gewebes am Aufbau der Ligula. c Zwei Blätter in der Knospenlage oberhalb der Ansatzstelle der Ligula quer geschnitten. d Epidermale Spaltung auf der Fläche der Ligula, Ausschnitt aus 9c, 300 ×.

Vereinzelte periklin eingezogene Zellwände in der zweiten Mantelschicht deuten auf den Beginn der Blattbildung hin. Wenig später beginnt auch die Epidermis in der für Gräser üblichen Weise am Wachstum des jungen Blattes teilzunehmen und vor allem die Spitzen- und Randpartien aufzubauen. Der erste Anstoß zur Ligulabildung geht von mehreren subepidermalen Zellagen aus. An ihrer Teilungsweise erkennt man schon die Stelle, an der die Ligula später auftreten wird (Abb. 9). Mit der oberflächlichen Hervorwölbung des Gewebes setzt auch das epidermale Wachstum ein, das zu einer beachtlichen Kuppenbildung führt. Einen ähnlichen Vorgang schildert auch BUGNON (1921) für *Melica*, nur daß dort die Ligula trotzdem rein epidermaler Herkunft bleiben soll. Gegenüber anderen Gramineen wird hier die Ligula außerordentlich mssig

entwickelt, was durch die Beteiligung der subepidermalen Lage nicht allein erklärt werden kann. Die Epidermis vermag sich auch auf der Fläche des Blatthäutchens noch anhaltend periklin zu teilen (Abb. 9c) und trägt dadurch wohl vorwiegend zu ihrem Dickerwerden bei.

Auf der abaxialen Seite des Blattes markiert sich an der Grenze zwischen Scheide und Blattstiel ein mehr oder weniger deutlich ausgebildeter ligulaartiger Gewebewulst (Abb. 10), der sich über die ganze Blattaußenseite bis zur Ligula hin erstreckt. Über seine morphologische Bedeutung kann vorläufig noch nichts ausgesagt werden, das soll Gegenstand einer weiteren Untersuchung werden. Er befindet sich an der Stelle, an der sich bei alten Blättern das Blattstielgelenk von der Scheide trennt. Das Trennungsgewebe verläuft in einer bogigen Linie oberhalb des Auswuchses und der Ligula. Man findet die ersten Teilungen zu diesem abaxialen Wulst etwa am 5. Blatt genau opponiert zur Ligula. Seine Entwicklung scheint ähnlich wie die der Ligula zu verlaufen. Zuerst setzt eine Teilungstätigkeit der subepidermalen Schichten durch Einziehen von periklinen Wänden ein. Später sind am gleichen Ort auch Teilungen in der Epidermis nachzuweisen. Die weitere Entwicklung konnte hier nicht verfolgt werden.

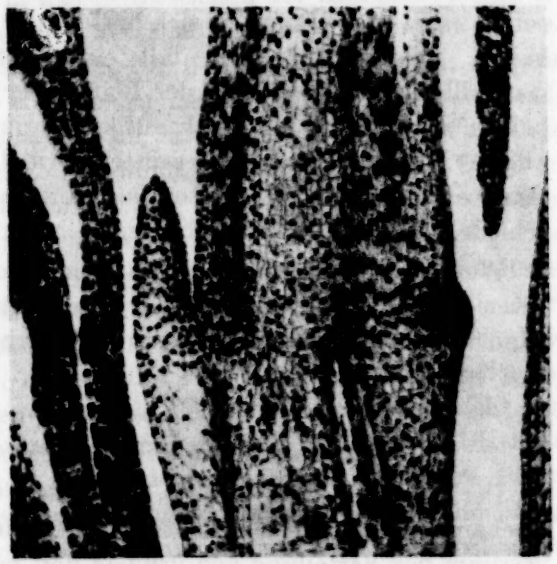


Abb. 10. *Bambusa verticillata*, junges Blatt mit Ligula und abaxialem Gewebehöcker im Längsschnitt.

Der histologische Bau des Vegetationskegels und die Entwicklung des Blattes von *Bambusa verticillata*, die 3 selbständige Gewebeelemente erkennen lassen, scheinen auch bei dieser Pflanze eine Möglichkeit der Chimärenbildung offen zu lassen. Die Ligula müßte sich hier bei einer haplochlamydischen Form aus 2 Komponenten zusammensetzen.

6. Oryza sativa L.

Von *Oryza sativa* sind des öfteren weiß- oder gelbbunte Pflanzen beschrieben worden. Die durchwegs japanische Literatur konnte leider nicht eingesehen werden. Die entsprechenden Referate (Imai 1928, S. 544) brachten natürlich keine eingehende Beschreibung der anato-

mischen Verhältnisse und der im Original etwa vorhandenen Abbildungen. Rein mütterliche Vererbung soll aber meistens vorgelegen haben. DOULIOT zeigt (1891, Taf. 3, Fig. 10) einen Scheitel mit selbständigem Dermatogen und einer Initiale für das gesamte Binnengewebe.

Das zur Klärung dieser Frage fixierte Material erwies sich leider insofern als nicht recht geeignet, als es sich zeigte, daß der größte Teil der Knospen schon zur Infloreszenzbildung übergegangen war. Da auch die meisten übrigen Vegetationspunkte ziemlich schlank gebaut waren, schien es zweifelhaft, ob sie sich noch in der vegetativen Phase befunden haben. An ihnen war jedenfalls eine deutliche zweischichtige Tunica feststellbar, die im Bereich der Blatt-(oder Teilinfloreszenz)anlagen mit beiden Schichten etwa gleichzeitig in perikliner Richtung aufzuspalten pflegt. Die Ligula entsteht rein epidermal. In der Ausgestaltung des Randes von Ober- und Unterblatt gibt es wieder die gleichen Unterschiede wie bei allen vorher beschriebenen Formen.

Wenn der Schichtenbau des Vegetationspunktes der vegetativen Phase auch beim Übergang zur reproduktiven Phase erhalten bleibt, dann wäre auch hier eine Chimärenbildung mit großer Wahrscheinlichkeit möglich.

7. *Phalaris arundinacea* L. *var. picta* L[1].

Der Verdacht, daß es sich bei diesem Gras um eine entwicklungsmechanisch bedingte Buntheit handelt, wird erst durch ein genaueres Studium der Verteilung von grünem und farblosem Gewebe begründet. Auf den ersten Blick scheint hier eine recht regellose Streifenpanaschüre vorzuliegen. Die Sektoren mit den einzelnen Gewebeanteilen lassen sich nicht längs des ganzen Sprosses verfolgen, da sie sehr schmal sind und von einem Blatt zum anderen zu wechseln zu scheinen. Sie verlaufen aber fast kontinuierlich von der Blattscheide zur Spreite durch. Die Ligula ist immer rein weiß. Das Vorkommen von grünen Rückschlagssprossen aber deutet schon auf die Chimärennatur hin (rein weiße Triebe konnten dagegen in Jena bis jetzt noch nicht beobachtet werden). Die Tatsache, daß die Blattränder aller untersuchten Pflanzen immer dem farblosen Anteil angehören, läßt auf eine Periklinalchimäre schließen, die makroskopisch ja meist an dem abweichenden Blattrand erkennbar ist. Wenn die Randkomponente auch viel häufiger in der Blattfläche erscheint als wir es von Periklinalchimären anderer Monocotylen gewohnt sind, dann mag das mit der besonderen Wachstumsweise des Gramineenblattes zusammenhängen. Auffällig ist ferner, daß die Gewebestreifen mit der Beschaffenheit des Blattrandes zwar meist von der Basis bis zur Spitze des Blattes durchgehen, aber auch im

[1] In den Gärten oft als *variegata* oder *var. foliis variegatis*.

grünen Feld beginnen und wieder enden können. Die grünen Streifen im weißen Feld beginnen dagegen stets an der Basis. Die anatomische Analyse der erwachsenen Pflanze läßt erkennen, daß die grünen und blassen Anteile in gegenseitiger gerader oder unregelmäßiger Begrenzung von der oberen Epidermis bis zur unteren reichen (Abb. 17b). Über die Zugehörigkeit der Epidermis müßte der Chlorophyllgehalt der Schließzellen entscheiden. Diese sind auf Ober- und Unterseite des Blattes und der Sproßachse über grünen und weißen Bezirken chlorophyllfrei. Die rein grünen Triebe zeigten in den Schließzellen der Stomata sehr deutlichen Chlorophyllgehalt, wie fluoreszenzoptische Untersuchungen ergaben. Diese Zusammensetzung der Gewebe läßt sich sehr gut mit der Annahme vereinbaren, daß wir es mit einer haplochlamyden Periklinalchimäre des Status albocinctus zu tun hätten. Die Tatsache, daß diese Form von den bisher bekannten Periklinalchimären unter den Liliaceen abweicht und eher als Sektorialchimäre erscheint, könnte in der viel stärkeren Anteilnahme der Epidermis an der Mesophyllbildung ihre Erklärung finden, und das wäre bei den Gräsern ja nichts Besonderes. Bei den früher untersuchten haplochlamyden Liliaceen war die Verteilung der unterschiedlichen Gewebe eine grundsätzlich andere. Wie das Schema Abb. 17a zeigt, bildeten die Abkömmlinge des Dermatogens auf der Blattfläche im allgemeinen nur Mesophyllstreifen, die nicht von der Blattoberseite zur -unterseite durchgingen. Bei diesem Blattbau mußte die Innenkomponente fast in voller Breite in die junge Blattanlage eintreten. Die Epidermis dagegen dürfte mit der Aufspaltung außerhalb der Randzone erst dann beginnen, wenn dieser Eintritt schon vollzogen war. Und so konnte an der Ansatzstelle des Blattprimordiums diese Teilung auch nur im Bereich des zukünftigen Blattrandes nachgewiesen werden (Renner 1936b, S. 463, Fig. 14); Thielke 1948a, S. 14, Fig. 44). Da bei *Phalaris* sich die einzelnen Sektoren durch den ganzen Blattquerschnitt von Epidermis zu Epidermis erstrecken (Abb. 17b), müßte die Aufspaltung des Dermatogens schon außerordentlich früh, am Vegetationspunkt selber erfolgen.

Wenn diese eben erläuterte Annahme zu Recht bestünde, hätten wir für die Blattentwicklung den Nachweis zu bringen, daß 1. am Blattaufbau 2 histogenetisch selbständige Elemente beteiligt sein können, 2. epidermales Randwachstum stattfindet, und 3. die Epidermis sich auch außerhalb der Blattrandzone recht bald zur Mesophyllbildung aufteilt.

Der Vegetationspunkt der normal grünen Form von *Phalaris arundinacea* ist von Douliot (1890, S. 316, Taf. 14, Fig. 2) als 2. Gramineenbeispiel beschrieben, dort noch als *Baldingera arundinacea* bezeichnet. Er stellte wieder das Vorhandensein der 3 Hansteinschen Histogene fest und wies darauf hin, daß die Aufspaltung der Rindenschicht schon

recht früh einsetze. In seiner folgenden Arbeit (1891) bekennt er sich aber auch für *Baldingera* zu der damit für alle Gramineen als gültig befundenen Ansicht, daß am Vegetationspunkt 2 Histogeninitialen tätig seien, deren äußere die Epidermis und die Blätter hervorbringe, während die innere Rinde und Zentralzylinder erzeugen soll.

Da die Klarstellung der Entwicklungsgeschichte dieses panaschierten Blattes besonders wichtig war, gelangten 40 Schnittserien zur Untersuchung. Der Längsschnitt zeigt, daß der ziemlich kleine, aber großzellige Vegetationskegel über eine zweischichtige Tunica verfügt (Abb. 11 u. 12). Die zweite Zellage erfährt, ähnlich wie bei *Glyceria*, in nicht zu großer Entfernung vom Scheitelmittelpunkt eine Aufteilung, die im Bereich der zukünftigen Blattanlage zu ihrer Verdoppelung führen kann. Daß die Abkömmlinge dieser Teilungen in die Vorwölbung des jungen Blattprimordiums eintreten können, ist sicher. Die Anteilnahme der beiden Tunicaschichten an der Blattbildung ist unterschiedlich. So sind z. B. in Abb. 12 rechts schon 4 subepidermale Zellen zur Blattanlage geteilt, während es in der nächst älteren nur eine ist. Dort ist dafür auch schon eine Epidermiszelle geteilt. Die Aufteilung in Epi- und Subepidermale am basalen Teil des Vegetationspunktes links gehört zu der ältesten hier dargestellten Blattanlage rechts, die mit ihrem unteren Teil den ganzen Vegetationskegel umschließt. Das gleiche wechselnde Verhältnis der beiden Schichten in einer Blattanlage läßt sich auch an Querschnitten zeigen, die den Vegetationskegel unterhalb eines solchen Primordialwulstes getroffen haben. In Abb. 13 ist die abwechselnde Spaltungstätigkeit von Dermatogen und subepidermaler Schicht zu erkennen. An älteren Blättern sind solche Aufteilungen parallel der Oberfläche nicht mehr nachzuweisen, wenn man von der Randzone absieht. Die Ligula leitet sich nur aus der Epidermis her. Blattscheide und -spreite unterscheiden sich in der üblichen Weise durch die anatomische Struktur ihres Randes.

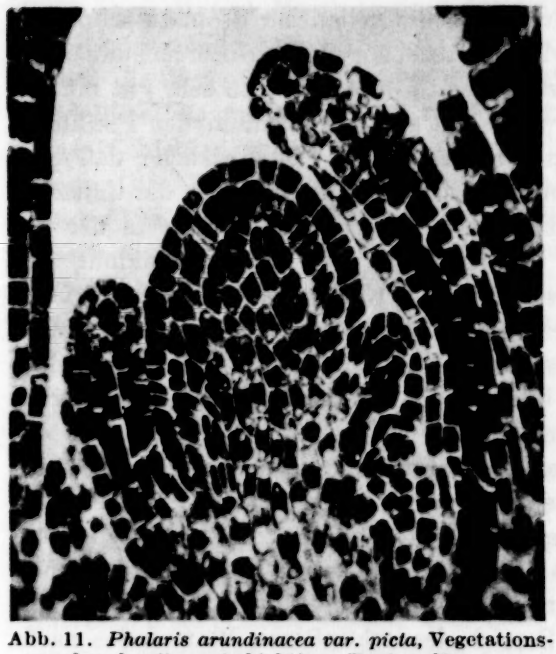


Abb. 11. *Phalaris arundinacea var. picta*, Vegetationskegel mit zweischichtiger Tunica, längs.

Phalaris arundinacea läßt sich somit sehr wohl als eine haplochlamyde Periklinalchimäre des Status albocinctus auffassen, bei der die sektoriale Anordnung der beiden Mesophyllkomponenten durch die unterschiedliche Teilungstätigkeit der beiden Tunicaschichten bei der ersten Anlage des Blattes zustande kommt. Da die sektoriale Verteilung der 2 Gewebearten in der Scheiden- und in der Spreitenregion in fast gleicher Weise auftritt, so scheinen beide Blatteile aus einem noch undifferenziertem Primordium hervorzugehen und nicht das letzte aus dem ersteren zu entstehen, wie es TRÉCUL (1878) noch annahm. Das Primordium hat also zu diesem Zeitpunkt schon die gleiche Zusammensetzung der verschiedenen Anteile wie das erwachsene Blatt. Die Differenzierung in Ober- und Unterblatt setzt mit dem Erscheinen der Ligula ein. Dazu lassen sich die ersten Zellteilungen etwa am 5. bis 6. Blatt nachweisen. Die Ligula ist immer farblos, und das ist auch nicht anders zu erwarten, da sie aus dem gleichen Gewebe entsteht wie die Randpartien.

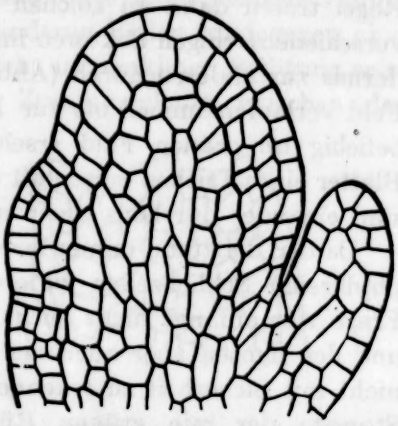
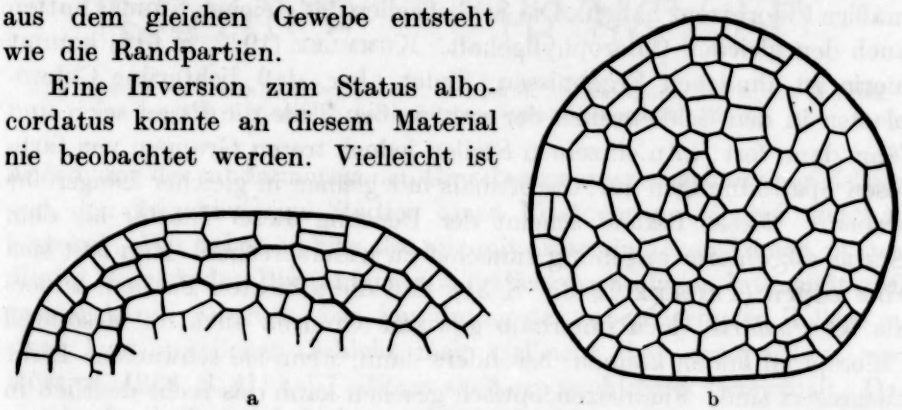


Abb. 12. *Phalaris arundinacea*, Scheitel im Längsschnitt, 300 ×.

Eine Inversion zum Status albocordatus konnte an diesem Material nie beobachtet werden. Vielleicht ist das chlorophyllfreie Gewebe nicht zur Ausbildung der Sproßachse befähigt, womit wieder das Fehlen der rein weißen Rückschlagstriebe in Zusammenhang stehen mag.



a b

Abb. 13 a—b. *Phalaris arundinacea*, Querschnitt durch die Knospe. a Blattanlage, b Vegetationskegel im Bereich der Blattanlagen, 300 ×.

8. Oplismenus imbecillis KTH.

Hier sprechen dieselben Anzeichen für eine entwicklungsmechanisch bedingte Panaschüre. Ebenso wie bei *Phalaris* kommen rein grüne Triebe vor, die, einmal ausgebildet, nicht wieder bunt werden können.

Dagegen treten auch beständige rein weiße Sprosse, vor allem im Sommer auf. Alle Blätter, die auch nur eine Spur von Buntheit zeigen, haben wieder weiße Blattränder. Es können aber auch grüne Blätter mit einem nur auf einer Seite vorhandenen hellen Rand entstehen, in der Regel treten dann an solchen Stengeln grüne Rückschläge auf. Die verschiedenfarbigen Sektoren im Mesophyll gehen wieder von einer Epidermis zur anderen durch (Abb. 17c). Die grünen Streifen im weißen Feld verlaufen immer bis zur Blattbasis, die weißen dagegen können beliebig im grünen Feld erscheinen und wieder verschwinden. Die Blätter eines Triebes weisen oft eine recht wechselnde Streifung auf und sind einander durchaus nicht immer ähnlich.

Da der Blattrand immer farblos ist, sollte eine Epidermis mit chlorophyllfreien Schließzellen zu erwarten sein. Die Entscheidung dieser Frage war anfangs nicht leicht, da in den Schließzellen der farblosen und der bunten aber auch der ganz grünen Zweige eine grüne Farbe nicht mit Sicherheit zu erkennen war. Im UV.-Licht war dann in den Stomata der rein grünen Rückschlagszweige eine leuchtend rote Fluoreszenz wahrnehmbar. Die ganz blassen Zweige fluoreszierten zum Teil gar nicht, zum Teil schwach; und auch in den bunten Blättern wiesen die Schließzellen eine wechselnde Fluoreszenz auf, unabhängig davon, ob sie über grünem oder blassem Mesophyll gelegen waren. Dabei konnten unmittelbar benachbarte Spaltöffnungen gar keine oder nur mäßige Fluoreszenz haben. Die Schließzellen des gleichen Stomas hatten auch den gleichen Chlorophyllgehalt. KÜMMLER (1922, S. 616) kommt hierin zu ähnlichen Ergebnissen, findet aber, daß lichtgrüne Chloroplasten in den Schließzellen der rein weißen Teile die Regel seien und fährt dann fort: „An einzelnen Stellen jedoch treten Gruppen von farblosen Spaltöffnungen auf, die oftmals mit grünen in gleicher Längsreihe stehen." Dieser Befund scheint der Deutung dieser Blätter als dem Status albocinctus angehörig zunächst zu widersprechen. Nun läßt sich aber zeigen (THIELKE 1948a, S. 31), daß die albicaten Partien, anders als bei *Phalaris*, doch innerhalb gewisser Grenzen auch im Mesophyll Chlorophyll bilden können, besonders dann, wenn sie schwachem Licht ausgesetzt sind. Fluoreszenzoptisch gesehen kann das recht deutlich in Erscheinung treten. Aber auch bei stärkster Vergrünung ist der Unterschied im Chlorophyllgehalt gegenüber dem primär grünen Gewebe klar zu erkennen. Wenn nun die Plastiden des blassen Mesophylls von *Oplismenus* die Fähigkeit haben, unter bestimmten Lichtverhältnissen Chlorophyll zu bilden, dann sollte diese Eigenschaft auch denen der Schließzellen zukommen. Die Epidermis der bunten Blätter entspricht jedenfalls über beiden Mesophyllarten in ihrem Verhalten der Oberhaut ganz blasser Zweige. Die kräftige Fluoreszenz aller Stomata, wie sie an den reingrünen Sprossen auftritt, konnte hier nie gefunden werden.

Sollte die geäußerte Vermutung von dem Chimärenbau dieses bunten Grases zutreffen, dann wäre für die Blattentwicklung etwa das gleiche zu fordern wie für *Phalaris*. Es wurden dazu 59 Längs- und einige Querschnittserien angefertigt und untersucht. Auf manchen Längsschnitten sieht es zwar so aus, als sei eine echte zweischichtige Tunica vorhanden (Abb. 14a). In sehr vielen anderen Fällen ist dagegen eine Aufteilung der subepidermalen Zellschicht in perikliner Richtung sehr klar erkennbar (Abb. 14b, c, d). Ein Zusammenhang zwischen der

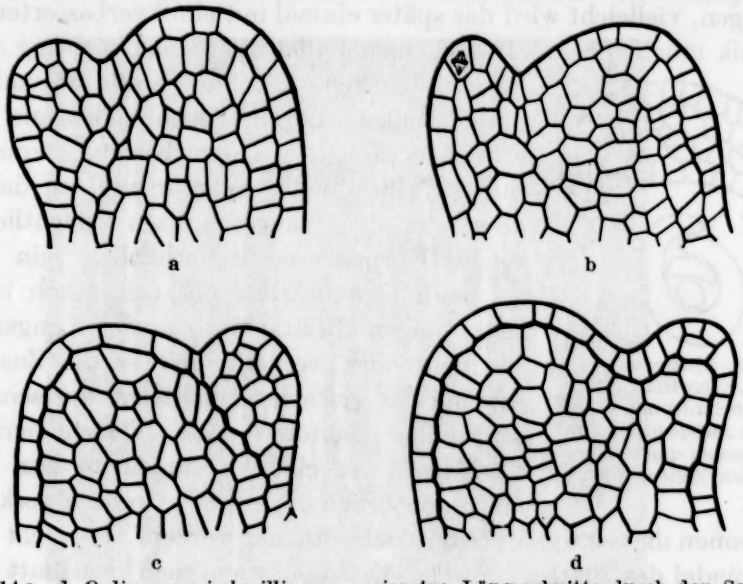


Abb. 14a—d. *Oplismenus imbecillis var. variegatus*, Längsschnitte durch den Scheitel. c und d stammen vom gleichen Vegetationspunkt. 300×.

Anordnung des subdermatogenen Gewebes zu einer einschichtigen Zellage und den verschiedenen Stadien eines Plastochrons scheint nicht zu bestehen. Wir haben es hier also nur mit einer einfachen Tunica zu tun, die im Bereich der Blattanlage mit örtlich wechselnder Intensität aufspalten kann. Die zeitweise Anordnung der subepidermalen Zellage zu einer kontinuierlichen Schicht mag vielleicht dem entsprechen, was Rösler (1928, S. 41) bei *Triticum* als Korpusschicht A bezeichnet. Das gleiche fand Kliem bei *Avena* (1936, S. 290).

Die Blattbildung beginnt zum Teil mit periklinen Zellteilungen des Dermatogens und auch gleichzeitig der darunterliegenden Lage. In anderen Fällen findet man solche Aufteilungen nur in der Epidermis oder nur in der Subepidermalen. Dementsprechend läßt sich auch das Gewebe der jungen Blattprimordien einmal allein aus der Epidermis (Abb. 14a, c), zum anderen vorwiegend aus den Abkömmlingen subepidermaler Zellen herleiten (Abb. 14b, d). Sehr häufig kann man beobachten, daß beides nebeneinander in der gleichen Blattanlage vorkommt. So zeigt sich in

Abb. 14c der Blatthöcker als nur aus epidermalen Zellen aufgebaut, während in Abb. 14d, dem dritten darauffolgenden Schnitt der gleichen Serie, die Beteiligung des Korpus am Aufbau des gleichen Blattes deutlich ist. Der Querschnitt durch eine solche Blattanlage (Abb. 15), die nur etwa 20 μ über den Gipfel des Vegetationskegels hinausragt, zeigt recht gut, daß nur wenige Zellen als Abkömmlinge verschiedener Histogene die Ursache eines zusammengesetzten Blattes darstellen. Wir können hier nicht mehr für jede Zelle Genaues über ihre Herkunft aussagen, vielleicht wird das später einmal mit einer verbesserten Färbetechnik möglich sein. In einzelnen Fällen ist die Aufspaltung der Epidermis deutlich. Ob nun gerade die subepidermalen Zellen, die eine eben vollzogene Teilung erkennen lassen, aus dem Korpus stammen, ist ihnen freilich nicht mehr anzusehen, dafür war aber aus den Längsschnitten ersichtlich, daß solche Korpusderivate vorhanden sein müssen.

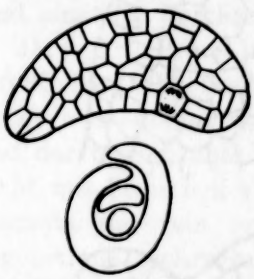


Abb. 15. *Oplismenus imbecillis*, junge Blattanlage im Querschnitt mit wechselnder Aufspaltung von epidermalen und subepidermalen Zellen, 300 ×.

Beide Gewebearten sind also schon bei einer sehr jungen Blattanlage in der Längsrichtung so ineinander verkeilt, wie es die Zusammensetzung des erwachsenen Blattes aus seinen verschiedenen Sektoren zeigt. Verschiebungen im Verhältnis der einen Komponente zur anderen mögen natürlich in gewissen Grenzen vorkommen. So können die Sektoren breiter oder schmäler werden, aber nicht über die Leitbündel des Blattes hinweg. Es *kann*, wenn man das Blatt von der Basis zur Spitze betrachtet, im grünen Feld ein weißer Streifen erscheinen oder verschwinden. Die Epidermis überzieht als ein- oder mehrschichtige Haut die Blattfläche und *kann* durch Einsetzen oder Aufhören der entsprechenden Teilungstätigkeit solche Streifen hervorrufen oder sie enden lassen. Niemals aber kommt in einem weißen Feld ein grüner Gewebestreifen vor, der nicht kontinuierlich bis zur Basis verläuft, sondern vorher endet. Wenn einmal ein bestimmter Bereich eines Blattprimordiums rein dermatogen entstanden ist, dann kann unter den Derivaten dieses Gewebes niemals eine Zelle mit chlorophyllhaltigen Plastiden auftreten, wenn man von der oben dargestellten sekundären Vergrünung absieht. Mit der Einwanderung von grünen Zellen aus einem benachbarten Sektor ist bei der Entwicklung eines parallelnervigen Blattes kaum zu rechnen. Es kann aber an der Basis einer Blattanlage in diesem Bezirk Korpusgewebe eintreten und dadurch einen grünen Streifen hervorbringen, der die Spitze nicht erreicht. Der weiße Blattrand wird infolge des noch länger anhaltenden epidermalen Randwachstums bei bunten Blättern niemals grün; und das ist bisher ebensowenig gefunden worden, wie der oben erwähnte spitzenwärts de novo erscheinende grüne Streifen im weißen Feld.

Der erste Ansatz zur dermatogenen Ligulabildung läßt sich meist am 5. oder 6. Blatt nachweisen. Nach der damit vollzogenen Trennung des Primordiums in Ober- und Unterblatt ist der Rand der Blattscheide wieder durch das im zweischichtigen Hautsaum sich kennzeichnende Randwachstum markiert, das dem Oberblattrand stets fehlt.

Durch die oben gegebene Erläuterung läßt sich die panaschierte Form von *Oplismenus imbecillis* recht gut als eine Periklinalchimäre vom Status albocinctus erklären, bei der die sektoriale Verteilung der

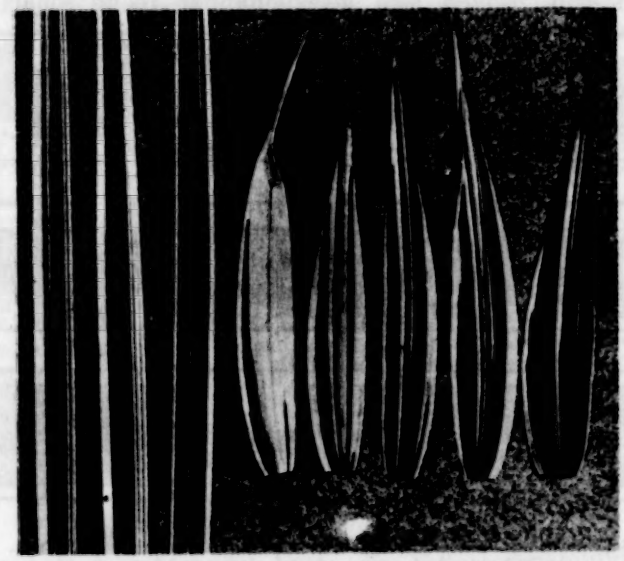


Abb. 16. Blätter von *Phalaris arundinacea var. picta* (links) und *Oplismenus imbecillis var. variegatus* (rechts).

Mesophyllanteile auf eine wechselnde Beteiligung des Korpus am Blattaufbau beruht.

Es bleibt auffällig, daß farblose Seitentriebe zwar auftreten können, jedoch die Umkehr zum Status albocordatus bei dem hiesigen Material nie beobachtet werden konnte. Auch KÜMMLER bildet eine Form mit nur weißen Rändern ab (1922, Taf. II). Die Tatsache aber, daß eine Chimäre immer nur in einem bestimmten Zustand auftritt und nur wenig oder gar nicht zur Inversion neigt, läßt sich auch bei vielen anderen Formen feststellen.

Wenn man die beiden eben beschriebenen panaschierten Gräser miteinander vergleicht, dann läßt sich bei aller Ähnlichkeit in der anatomischen Struktur und der Blattentwicklung doch manche Verschiedenheit aufzeigen (s. Abb. 16 und 17). Die Mitte der Blätter von *Phalaris* ist häufiger, mehr oder weniger deutlich, von einem grünen Feld eingenommen, über dem die Epidermis sehr oft aufgespalten ist und dadurch eine mehr graugrüne Farbe erzeugt. Besonders in den Randgebieten dieses Mittelfeldes vollzieht sich der Übergang zur farblosen Zone durch

eine starke Aufsplitterung der beiden Komponenten. Auch außerhalb des grünen Mittelfeldes können isolierte grüne Streifen erscheinen. Die Epidermis spaltet über diesem zapfenförmig in die Blattanlage eintretenden Mittelfeld häufiger auf als bei *Chlorophytum* und kann es durch eine genügend früh einsetzende Aufteilung auch von Anfang an in mehrere getrennt verlaufende Streifen teilen, was bei den Liliaceen nur ganz ausnahmsweise vorkommen kann. Bei *Oplismenus* dagegen ist die Streifung auch recht regellos, aber die einzelnen Sektoren, mögen sie breit oder schmal sein, setzen sich gegeneinander recht scharf ab, und

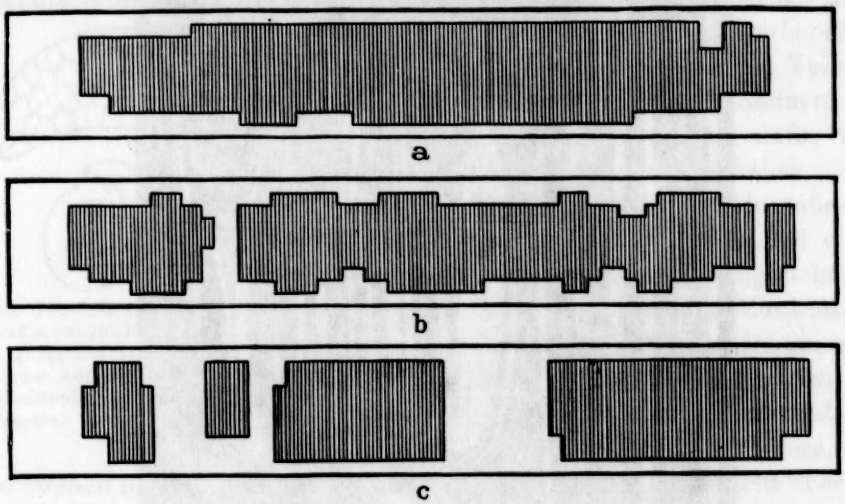


Abb. 17 a—c. Schematische Blattquerschnitte von a *Chlorophytum elatum*, weißrandig, b *Phalaris arundinacea var. picta*, c *Oplismenus imbecillis var. variegatus*. Das chlorophyllhaltige Gewebe ist schraffiert.

ihre gegenseitigen Grenzen verlaufen im Querschnitt relativ geradlinig (s. Schema Abb. 17). Es ist auch nie ein ausgesprochenes Mittelfeld vorhanden.

Phalaris ähnelt etwas mehr den Liliaceen, da hier das subepidermale Gewebe meist in Form eines mehr oder weniger geschlossenen Gewebezapfens in die Blattanlage eintritt. Gegenüber den Liliaceen (Abb. 17a) pflegt die epidermale Teilungstätigkeit auf der Blattfläche viel intensiver zu sein und sie scheint sich bei *Oplismenus* noch weiter zu steigern, da die scharfe Grenze der Sektoren gegeneinander durch die schon sehr früh erfolgte Aufteilung der Blattanlage in Epidermis- und Korpusderivate bedingt ist. Bei dem relativ dünnen, im Querschnitt nur wenige Zellen starken Blatt kann sich im Laufe seines Wachstums, das vorwiegend die Länge betrifft, das Verhältnis der beiden Gewebeelemente nicht mehr sehr ändern. Kommt noch eine nachträgliche Aufteilung der Epidermis über grünem Mesophyll vor, dann entsteht daraus ein farbloser Streifen, der das grüne Gewebe in diesem Bereich auch vollständig

verdrängen kann. Es läßt sich auch so denken, daß bei einem vorangegangenem Spitzenwachstum die Tätigkeit der Epidermis an diesem Ort erlischt, und dadurch das Eindringen subepidermalen Gewebes erlaubt. Die daraus resultierende Zeichnung ist in beiden Fällen die gleiche, nur daß der erste Fall interkalares Wachstum zur Voraussetzung hat und der zweite vorwiegend Blattspitzenwachstum. Hier ist wahrscheinlich anfangs beides nebeneinander vorhanden.

Das Fehlen der farblosen Triebe bei *Phalaris* und ihr relativ häufiges Vorkommen bei *Oplismenus* sind sicher auf die unterschiedliche Blattentwicklung zurückzuführen, da bei *Phalaris* der Eintritt subepidermalen

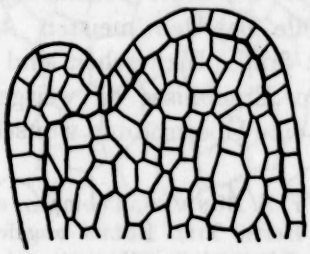


Abb. 18. *Sorgum bicolor*, Scheitel mit einschichtiger Tunica, längs, 300 ×.

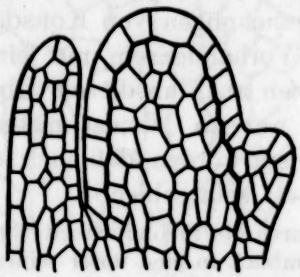


Abb. 19. *Panicum palmifolium*, Vegetationspunkt mit einschichtiger Tunica, längs, 300 ×.

Gewebes in die Blattanlage obligatorisch zu sein scheint, was für *Oplismenus* nicht in gleichem Maße gilt.

9. Sorgum bicolor Adans.

Auch bei diesem Material hatte die Infloreszenzbildung teilweise schon eingesetzt. In der vegetativen Phase ließ sich eine nur einschichtige Tunica deutlich erkennen (Abb. 18). Die Blätter entstehen zwar vorwiegend epidermal, doch tritt auch Korpusgewebe in die Blattbasis ein. Ober- und Unterblatt sind wie immer an der Ausgestaltung der Blattränder zu erkennen und werden durch ein Blatthäutchen rein epidermaler Herkunft gegeneinander abgegrenzt.

Im Vergleich zu *Oryza sativa* ist es bemerkenswert, daß auch bei den Scheiteln, die sich im Übergang zur Infloreszenzbildung befanden, direkt unter dem Dermatogen eine lebhafte Teilungstätigkeit in perikliner und antikliner Richtung feststellbar ist. Der Vegetationskegel hat also in diesem Fall die gleiche Schichtung wie in der vegetativen Phase.

Hier wäre eine Chimärenbildung in haplochlamyder Form möglich.

10. Panicum palmifolium Willd.

Bei *Panicum palmifolium* begegnet uns endlich die von den Gräsern sonst gewohnte Struktur des Vegetationskegels mit einer einschichtigen Tunica, die nur zur Blattbildung aufspaltet und für die Blattentwicklung allein verantwortlich ist (Abb. 19). Die Ligula stammt nur aus der Ober-

haut und die Blattränder zeigen die üblichen Unterschiede zwischen Ober- und Unterblatt. In den ersten Stadien zur Herausdifferenzierung des Blütenstandes bleibt die Struktur des Vegetationskegels erhalten.

Haplochlamyde Chimären wären hier denkbar; sie dürften aber am Blatt gar nicht und damit überhaupt kaum erkennbar sein.

11. Saccharum officinarum L.

Daß sich diese Untersuchungen auch auf *Saccharum officinarum* erstreckten, lag insofern nahe, als die Pflanze ja eine der stattlichsten Gramineen darstellt. In der Literatur liegen meines Wissens nur die Untersuchungen von KORSCHELT (1884) vor, der seine Vermutung von dem Vorhandensein nur einer Scheitelzelle bei den meisten Angiospermen auch an diesem Objekt bestätigt fand. Inzwischen sind aber seine nur an Handschnitten gewonnenen Ergebnisse so weitgehend widerlegt worden, daß auch in diesem Fall eine Überprüfung wünschenswert zu sein schien.

Durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. Dr. E. BÜNNING, Tübingen, erhielt ich Einblick in eine unter seiner Leitung von Herrn TILL EULEN angefertigte Staatsexamensarbeit, die sich mit der Blattentwicklung einiger Gramineen befaßt. Unter anderem wurde dort auch die Entstehung der Blätter von *Saccharum officinarum* studiert. Die hierzu gebrachten Abbildungen von Längsschnitten durch den Vegetationskegel sahen in bezug auf das Dermatogen etwas absonderlich aus, so daß ich anfangs der Meinung war, es seien dazu keine medianen Schnitte verwendet worden. Nach Fertigstellung meiner eigenen Schnittserien konnte ich aber dieses Aussehen für alle median getroffenen Schnitte bestätigen.

Im Verlaufe eines Plastochrons läßt sich zu keinem Zeitpunkt ein normales Dermatogen in der sonst üblichen geschlossenen Form nachweisen. Die medianen Längsschnitte sehen immer so aus, als habe man den Vegetationskegel von *Phragmites* oder einer anderen der oben dargestellten Gramineen der äußeren Kappenschichten beraubt. Stets sind Zellen von ungleicher Höhe als Folge von ungleichzeitig einsetzenden periklinen Teilungen in der äußersten Zellage direkt am Scheitel feststellbar (Abb. 20). Solch eine vollzogene Teilung gilt dann als exakt bewiesen, wenn die beiden Tochterzellen an eine nichtgeteilte Zelle in etwa gleicher Höhe grenzen, und das ist hier häufig nur auf einer Seite der Zellgruppe der Fall, während auf der anderen eine Reihe schon bereits quergeteilter Zellen vorhanden ist. Die Annahme, daß auch bei diesen die Teilung in perikliner Richtung erfolgt sei, ist allein nach der Lage der Zellwände nicht in allen Fällen zwingend. Aber man kann sehr oft an dem durch dieselben Kernphasen bedingten gleichartigen Aussehen der entsprechenden Zellinhalte erkennen, daß die untereinanderliegenden Zellen gleichen Alters sein müssen. Es macht den Eindruck, als ob diese Teilungen am häufigsten auf der Seite der jeweils jüngsten Blattanlage vorkommen. Von den beiden Tochterzellen wird die untere nach innen

abgedrängt und der ganze Vegetationskegel scheint sich nur aus solchen Abkömmlingen aufzubauen. Am Blattaufbau sind ausschließlich die äußeren Teilungsprodukte beteiligt. Die epidermale Aufspaltung hält auch am jungen Blattprimordium noch eine ganze Zeitlang an. Wenn sich aber in einer Höhe von etwa 600 μ die Ligula als rein epidermaler Auswuchs herausdifferenziert, dann ist auch wieder die histologische Gestaltung von Ober- und Unterblatt in der Weise vollzogen, daß

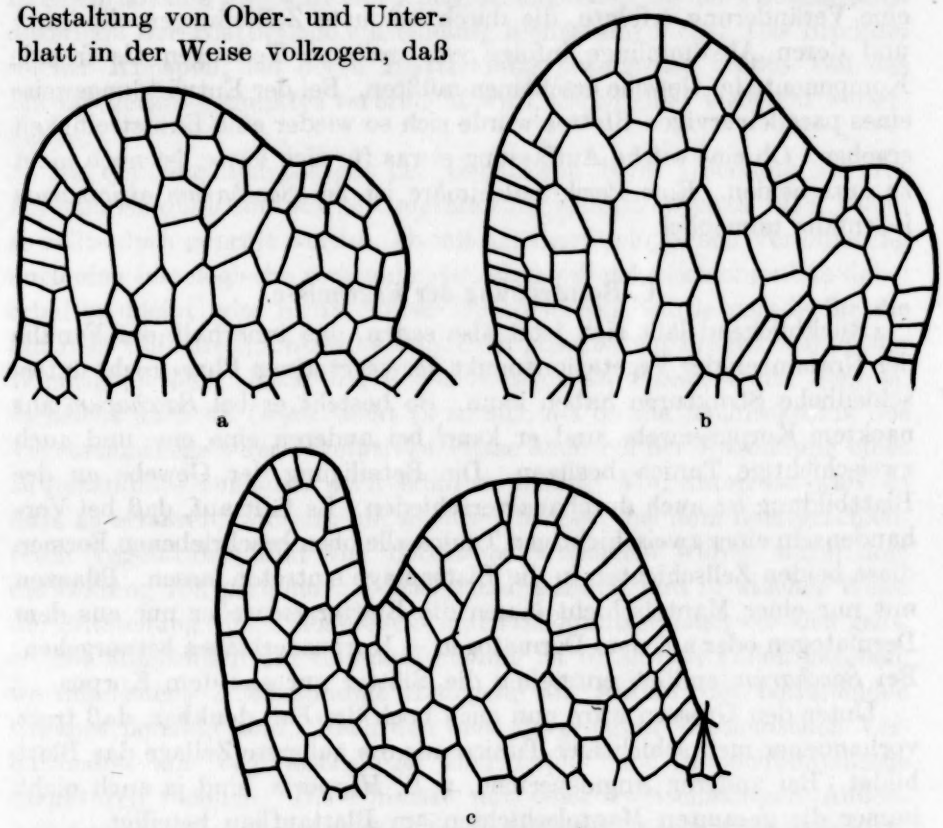


Abb. 20 a—c. *Saccharum officinarum*, Vegetationskegel ohne Tunica in medianen Längsschnitten.

wir nur im Bereich der Scheide das epidermale Randwachstum in Form von zweischichtigen Hautsäumen antreffen.

Die Tatsache, daß *Saccharum* über keinen geschichteten Vegetationskegel verfügt, mag wohl genügen, um die Frage nach der Möglichkeit der Periklinalchimärenbildung zu verneinen. Eine sektoriale Chimäre ist dagegen gut denkbar, wie solche ja auch bei Gymnospermen vorkommen können, die an ihrem Scheitel keine Tunica besitzen. Dabei muß sich die sektoriale Gliederung selbstverständlich auf den ganzen Sproß erstrecken. Eine fortdauernde Plastiden- oder Plasmaentmischung in den Zellen des Scheitels selber mag noch in den Embryonalzuständen der Pflanze vorkommen können, wird sich aber bei der Wachstumsweise

des Scheitels aus den äußersten Zellen heraus auf die Dauer kaum stabil erhalten können. Bei einem Nebeneinander von heterogenen Geweben müssen diese eine annähernd gleiche Wachstumsintensität besitzen, wenn die Zusammensetzung von Bestand sein soll. Eine entwicklungsmechanisch bedingte Panaschüre der Blätter könnte dann noch so entstehen, daß in den Zellen der sehr jungen Blattanlagen fortlaufend eine Veränderung erfolgte, die durch inäquate Zellteilungen eliminiert und deren Abkömmlinge infolge von weiteren Teilungen als fremde Komponente im Gewebe erscheinen müßten. Bei der Entwicklungsweise eines parallelnervigen Blattes würde sich so wieder eine Buntstreifigkeit ergeben. Ob eine solche Auffassung etwas für sich hätte, ist noch nicht zu entscheiden. Eine Periklinalchimäre ist bei *Saccharum officinarum* jedenfalls unmöglich.

C. Besprechung der Ergebnisse.

Rückblickend läßt sich jetzt also sagen, daß innerhalb der Familie der Gramineen der Vegetationspunkt der vegetativen Phase recht unterschiedliche Strukturen haben kann. So besteht er bei *Saccharum* aus nacktem Korpusgewebe und er kann bei anderen eine ein- und auch zweischichtige Tunica besitzen. Die Beteiligung der Gewebe an der Blattbildung ist auch durchaus verschieden. Es fällt auf, daß bei Vorhandensein einer zweischichtigen Tunica alle oben beschriebenen Formen diese beiden Zellschichten in die Blattanlage eintreten lassen. Pflanzen mit nur einer Mantelschicht lassen die Blätter entweder nur aus dem Dermatogen oder aus dem Dermatogen + Korpusderivaten hervorgehen. Bei *Saccharum* endlich entstehen die Blätter nur aus dem Korpus.

Unter den Gräsern wäre nun auch noch der Fall denkbar, daß trotz vorhandener mehrschichtiger Tunica nur die äußerste Zellage das Blatt bildet. Bei anderen Angiospermen, z. B. *Hippuris*, sind ja auch nicht immer die gesamten Mantelschichten am Blattaufbau beteiligt.

Die Anlage der Ligula entspricht nicht in allen Fällen der Anlage der Blätter. So kann sie auch dann rein epidermal bedingt sein, wenn 2 Histogene das Blattprimordium aufbauen, wie es bei *Phragmites*, *Dactylis*, *Phalaris* und *Sorgum* der Fall ist.

Für alle hier untersuchten Gräser gilt die Tatsache, daß sich nach dem Erscheinen der Ligula Ober- und Unterblatt allein an der Ausgestaltung ihrer Randzone erkennen lassen. Nur am Rand der Scheide kommen zweischichtige Hautsäume vor.

Bei der Betrachtung der Vegetationspunkte von *Glyceria* und *Phalaris* erhebt sich die Frage nach einer genaueren Definierung des Begriffes Tunica. Wir hatten gesehen, daß dort die Aufteilung der zweiten Zellschicht zur Blattanlage außerordentlich hoch, in unmittelbarer Nähe des Scheitelmittelpunktes selber erfolgt, so daß bei der von Seite zu

Seite wechselnden Blattbildung nur ein Bezirk von 4—5 Zellen im Durchmesser unaufgespalten bleibt. Theoretisch ist nun der Fall möglich, daß die zukünftige Blattanlage noch etwas höher hinaufrückt, so daß vielleicht nur noch eine 1—2 Zellen breite Lage ungeteilt bleibt. Wäre dieses Minimum dann noch als zur Tunica gehörig aufzufassen? In einem solchen Fall wäre es wichtig, festzustellen, ob diese Zellage auch unterhalb der Blattanlage einschichtig bleibt oder nicht. Das Studium solcher Knospen, bei deren Blattbildung jeweils der größte Teil des Sproßvegetationspunktes verbraucht wird, könnte hier vielleicht weiterhelfen.

Da der Vegetationskegel der Gramineen beim Übergang zur Infloreszenzbildung eine starke Umgestaltung erfährt (Weber 1938, 1939), so sollte doch geprüft werden, ob mit der morphologischen Veränderung auch eine histologische verbunden ist, ob der gleiche Schichtenbau dabei erhalten bleibt oder nicht. Diese Untersuchung würde gerade für die mit dem Chimärenproblem verbundenen genetischen Fragen von großer Wichtigkeit sein. Nach den Beobachtungen an *Panicum* und *Sorgum*, vielleicht auch an *Oryza*, sieht es so aus, als ob die Architektonik des Vegetationskegels der vegetativen Phase auch bei der Ausbildung eines Blütenstandes zunächst noch erhalten bleibt. Von Interesse wäre es nun, zu erfahren, wie sich ein solcher Übergang bei dem nichtgeschichteten Vegetationspunkt von *Saccharum* vollziehen würde, wann dort die Bildung von peripheren Zellschichten einsetzt und in welcher Weise die Entstehung von Embryosack- und Pollenmutterzellen vor sich geht.

Die Möglichkeit zur Chimärenbildung ist in all den Fällen gegeben, wo mindestens 2 selbständige Histogene am Aufbau des betreffenden Organes beteiligt sind. Nach den oben dargelegten histologischen Verhältnissen am Vegetationskegel sind haplo- und diplochlamydische Strukturen möglich. Die Chimäre mit einer zweischichtigen Außenkomponente würde bei den oben beschriebenen Formen mit zweischichtiger Tunica Blätter von homogenem Gewebe aufweisen, da der Eintritt von Zellen aus dem Korpus in das Blattprimordium bei diesen nicht nachgewiesen werden konnte. Dieser Chimarenbau dürfte am Stengel allein schwer aufzufinden sein. Das gleiche gilt auch für die haplochlamydisch zusammengesetzten Pflanzen, deren Blätter sich nur aus dem Dermatogen ableiten.

Die in der Knospe der beiden bunten Formen von *Phalaris* und *Oplismenus* aufgefundenen histologischen Verhältnisse gestatten ohne weiteres die Annahme, daß sie aus 2 Gewebesorten von unterschiedlichem Chlorophyllgehalt zusammengesetzt sind. Die perikline Anordnung der Gewebe bleibt in der Sproßachse vollständig erhalten. Die für die Gräser charakteristische intensive Beteiligung der Epidermis am Blattaufbau ändert die sonst für diese Fälle typische Randzeichnung

etwas ab. So ist der Status albocinctus des Blattes mit einer sektorialen Verteilung der beiden Mesophyllkomponenten verbunden.

Die Unterschiede in der Blattentwicklung einerseits und der daraus entstehenden Zeichnung andererseits stimmen in ihren Zusammenhängen so gut überein, daß sie auch damit die Annahme von der entwicklungsmechanisch bedingten Buntheit beider Formen bestätigen. Daß hier keine Neigung zur Inversion vorzuliegen scheint, mag bei *Phalaris* damit zu erklären sein, daß Pflanzen, deren Achse vorwiegend aus der farblosen Komponente besteht, nicht existenzfähig sind. Bei *Oplismenus* dagegen, das häufig rein weiße Sprosse bildet, sollte sie zu finden sein. Es pflegen allerdings auch bei anderen Pflanzen die weißrandigen Formen vorzuherrschen und stabiler zu sein. Vielleicht läßt sich eine Inversion durch experimentelle Eingriffe erzeugen.

In diesem Zusammenhang wäre es von großem Interesse die Experimente BALLS (1950) an solchen panaschierten Gewächsen zu wiederholen. Er zeigt, daß die Zellen des Vegetationskegels im Bereich der jüngsten Blattanlage noch nicht so weit determiniert sind, daß sie nur noch Blätter erzeugen können. Durch Verletzung des Hauptscheitels kann man diesen Zellkomplex zur Bildung eines neuen Vegetationspunktes veranlassen, wobei die ursprüngliche Schichtung anscheinend nicht immer erhalten bleibt. Wenn es sich dabei um das vorzeitige Austreiben der Achselknospe des sonst an dieser Stelle entstehenden Blattes handeln würde, dann sollten Beobachtungen an Periklinalchimären darüber Auskunft geben können, ob die Schichtung hier, wie sonst üblich, genau so auftritt wie am Hauptvegetationspunkt oder nicht. Hier scheint ein Weg vorgezeichnet, der uns vielleicht in der Frage nach der ursächlichen Entstehung von Rückschlagstrieben weiterhelfen könnte.

Eine Überprüfung der in der Literatur beschriebenen bunten Gräser auf ihre eventuelle Periklinalchimärennatur hin war nur in wenigen Fällen möglich. Von den beiden von SABNIS (1932, S. 228 und 229) abgebildeten panaschierten Gräsern entspricht die Buntheit von *Arundo Donax* durchaus unserer *Phalaris*, auch hier haben alle dargestellten Blätter einen weißen Rand, und das Mittelfeld ist bald schmäler, bald breiter grün. Bei *Bambusa vulgaris var. striata* ist die Streifung leider nicht ganz zu erkennen. Im Text wird nichts Näheres darüber gesagt.

RISCHKOW (1927, S. 18) beschreibt eine bunte *Setaria glauca*, die er mit *Phalaris* vergleicht. Auch hier fehlten rein weiße Sprosse, und grüne Rückschläge traten selten auf. Die Epidermis führte nirgends Chlorophyll, auch nicht bei rein grünen Pflanzen.

Von einer gestreiften Roggenpflanze zeigt BUCHINGER (1932, S. 66) 4 schematische Blattquerschnitte, die alle grüne Ränder hatten, doch wurde nicht gesagt, daß dies die Regel sei. Periklinalchimärischer

Bau des Blattes dürfte bei *Secale* vielleicht doch vorkommen, da nach den Untersuchungen von RÖSLER (S. 43) der Scheitel zwar die gleiche Struktur besitzt wie der von *Triticum*, die Blattentwicklung aber nicht völlig geklärt wurde. Seine Abb. 52 läßt diese Möglichkeit aber durchaus zu.

Beim Hafer soll nach KLIEM (1936, S. 304) die Blattanlage aus der aufspaltenden Tunica und dem Korpus hervorgehen.

Die rein mütterlich vererbte Scheckung beim Mais, wie sie ANDERSEN (1923), DEMEREC (1927) und ZIRKLE (1929) schildern, scheint keine einheitlichen Randzonen auszubilden. Die Streifung ist hier meist so außerordentlich fein, daß die Gewebe mit unterschiedlichem Chlorophyllgehalt wohl kaum von verschiedenen Histogenen stammen dürften.

Über die Herkunft des blassen Gewebes bei den von uns untersuchten Formen lassen sich vorläufig nur Vermutungen anstellen, genetische Analysen sind noch nicht durchgeführt worden. Wenn die farblosen Triebe fertil sind, dann könnte man durch entsprechende Kreuzungen feststellen, ob eine Übertragung von Plasma oder Plastiden durch den Pollen möglich ist. Ebenso müßte dann zu klären sein, ob Eizelle und Pollen der bunten Zweige wirklich von den chorophyllführenden, d. h. von den subepidermalen Zellen abstammen.

Die Vorstellung, daß die Buntheit eines Gramineenblattes für jedes Blatt von neuem durch Plastidenmutation und -entmischung erst in der Blattanlage hervorgehen soll, bereitet doch einige Schwierigkeiten. Eine solche Differenzierung müßte also gleich bei den ersten Teilungen der Epidermis zur Blattanlage erfolgen, da die Streifung von der Blattbasis bis zur Spitze etwa kontinuierlich verläuft. Und es ist nicht so recht einzusehen, warum dann die Blatträndер der beiden oben beschriebenen Gräser nicht auch einmal grün sein könnten, was jedoch nie zu finden war.

Zusammenfassung.

1. Innerhalb der Familie der *Gramineae* haben sich am Scheitel recht unterschiedliche histologische Strukturen nachweisen lassen.

a) Von den hier untersuchten Gräsern haben *Phragmites communis*, *Glyceria maxima*, *Dactylis glomerata*, *Zizania miliacea*, *Bambusa verticillata*, *Phalaris arundinacea var. pieta* und vielleicht auch *Oryza sativa* einen Vegetationskegel mit echter zweischichtiger Tunica, die sich nur im Bereich der Blattanlagen in perikliner Richtung aufspaltet. Die Blätter bauen sich bei diesen Arten aus beiden Mantelschichten auf; die Beteiligung des Korpus ließ sich nirgends zeigen. Bei diesen Formen wären haplo- und diplochlamydische Periklinalchimären möglich.

b) Eine nur einschichtige Tunica besitzen *Oplismenus imbecillis var. variegatus*, *Panicum palmifolium* und *Sorgum bicolor*. Die Blätter entstehen bei *Panicum* nur aus der Epidermis. Bei *Sorgum* und *Oplismenus*

kann außerdem noch Korpusgewebe in die Blattanlage eintreten. Hier könnten grundsätzlich nur haplochlamyde Periklinalchimären entstehen, wobei das Blatt von *Panicum* nur aus dem Mantelgewebe hervorgeht.

c) Der Scheitel von *Saccharum officinarum* besteht aus nacktem Korpusgewebe, wie es sonst unter den Spermatophyten nur bei den Gymnospermen bekannt ist. Ein periklinalchimärischer Bau ist deshalb hier unmöglich.

2. Durch die Übereinstimmung von Anatomie und Entwicklungsgeschichte lassen sich die beiden panaschierten Formen *Phalaris arundinacea var. picta* und *Oplismenus imbecillis var. variegatus* als haplochlamyde Periklinalchimären des status albocinctus auffassen. Die sektoriale Verteilung der beiden Gewebekomponenten im Mesophyll ist durch die den Gräsern eigene starke Anteilnahme der Epidermis an der Blattbildung bedingt.

Literatur.

Anderson, E. G.: Bot. Gaz. **76**, 411 (1923). — Ball E.: Isolation, removal and attempted transplants of the central portion of the shoot apex of *Lupinus albus* L. Amer. J. Bot. **37**, 117 (1950). — Buchinger, A.: Österr. bot. Z. **81**, 60 (1932). — Buder, J.: Ber. dtsch. bot. Ges. **46**, 20 (1928). — Bugnon, P.: La feuille chez les Graminées, Caen 1921. — Collins, E. J.: J. Genet. **12**, 1 (1922). — Deinega, V.: Flora (Jena) **85**, 439 (1898). — Demerec, M.: Bot. Gaz. **84**, 139 (1927). — Douliot, H.: Ann. sci. nat. Bot., VII. sér., **11**, 283 (1890); **13**, 93 (1891). — Goebel, K.: In A. Schenks Handbuch der Botanik, Bd. 3. Breslau 1884. — Groom, P.: Ber. dtsch. bot. Ges. **3**, 303 (1885). — Hanstein, J.: Die Scheitelzellgruppe im Vegetationspunkt der Phanerogamen. Bonn 1868. — Imai, Y.: Genetics **13**, 544 (1928). — Kliem, F.: Beitr. Biol. Pflanz. **24**, 281 (1936). — Korschelt, P.: Jb. Bot. **15**, 642 (1884). — Kümmler, A.: Jb. Bot. **61**, 610 (1922). — Küster, E.: Mh. naturwiss. Untersuch. **12**, 37 (1919). — Renner, O.: Flora (Jena) **30**, 218 (1936a); **30**, 454 (1936b). — Rischkow, W.: Biol. Zbl. **47**, 18 (1927). — Rösler, P.: Planta (Berl.) **5**, 28 (1928). — Sabnis, T. S.: Z. Abstammgslehre **62**, 213 (1932). — Schmidt, A.: Bot. Archiv 8, 345 (1924). — Seeliger, I.: Studien am Sproßvegetationskegel von *Ephedra fragilis var. campylopoda*. Diss. Breslau 1944. — Thielke, Ch.: Planta (Berl.) **36**, 1 (1948a); **36**, 154 (1948b). — Trécul, M. A.: C. r. Acad. Sci. Paris, **87**, 1008 (1878). — Weber, H.: Planta (Berl.) **28**, 275 (1938); **29**, 427 (1939). — Zirkle, C.: Botl. Gaz. 88, 186 (1929).

Frl. Dr. Charlotte Thielke, Jena,
Institut für Allgemeine Botanik der Universität.

Planta, Bd. 39, S. 431–459 (1951).

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen.

BEITRAG ZUR KENNTNIS DER POLLENFERMENTE.

Von

AGNES HAECKEL.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. Februar 1951.)

Betrachtet man das Mißverhältnis zwischen der geringen Größe der Pollenkörner und der Länge der Pollenschläuche von der Narbe bis zur Samenanlage, so erhebt sich die schon alte Frage: Woher erhält der Pollen die zur Ausbildung des Pollenschlauches notwendigen Aufbausubstanzen? Die Vermutung, daß der Griffel diese liefere, ist schon häufig geäußert worden (vgl. z. B. SCHOCH-BODMER 1945a, 1946, dort weitere Literatur). Man nahm dabei an, daß zur Mobilisation dieser Substanzen Fermente vom Pollenschlauch sezerniert würden.

Daß tatsächlich Fermente in Pollen und Pollenschläuchen vorhanden sind, ist auch in zahlreichen Arbeiten nachgewiesen worden (Literatur bei BRINK, 1924). Trotzdem ist unser Wissen über die speziellen Aufgaben und Leistungen solcher Fermente nicht sehr groß. So wissen wir noch nicht einmal sicher, wo bzw. welche Fermente überhaupt ausgeschieden werden (GREEN, 1894; BRANSCHEIDT, 1930; KÜHLWEIN, 1937; SCHOCH-BODMER, 1946). Auch über den Einfluß der Keimung des Pollens, seines Alterns und weiterer physiologischer Vorgänge auf die Pollenfermente ist erst wenig bekannt (GREEN, 1894).

Bei der großen Zahl der im Pollen vorkommenden Fermente (nach PATON, 1921, mindestens 9 bei 18 untersuchten Pollenarten) muß man sich bei quantitativen Untersuchungen dieses Gebietes natürlich beschränken. In der nachstehenden Arbeit sind daher nur 3, den Kohlenhydratstoffwechsel betreffende Fermente berücksichtigt, nämlich *Phosphatase*, *Amylase* und *Invertase*.

Über das Vorkommen von *Phosphatase* in Pollen weiß man noch nichts Sicheres, jedoch hat IGNATIEFF (1936) gefunden, daß die Antheren zu den Organen mit höchster Phosphataseaktivität gehören. *Amylase* und *Invertase* sind dagegen schon oft in den Pollenkörnern nachgewiesen worden (qualitativer Nachweis: ERLENMEYER, 1874; PATON, 1921; ELSER und GANZMÖLLER, 1931); und durch GREEN (1894) wissen wir auch schon einiges über den Einfluß des Pollenalters, der Pollenkeimung und des Keimmediums auf das Verhalten dieser beiden Fermente. Die Mehrzahl der bisherigen Untersuchungen ist aber schon in einer Zeit gemacht worden, als erst wenig von der Spezifität der Fermente bekannt

war und insbesondere das p_H-Optimum der Fermente nicht berücksichtigt werden konnte.

Aufgabe dieser Arbeit soll sein:

1. Genaue, quantitative Fermentbestimmungen unter optimalen und spezifischen Bedingungen für die 3 genannten Fermente am Pollen durchzuführen.

2. Ihre Aktivität bei Keimung des Pollens und in Beziehung zur Keimfähigkeit zu prüfen, um daraus möglicherweise die Bedeutung der hydrolytischen Fermente für die Pollenkeimung ablesen zu können.

3. Zu versuchen, die Lokalisation wenigstens der Phosphatase durch histochemische Untersuchung klarzustellen.

I. Methodik.

1. Sammeln und Behandeln des Pollens.

Die Antheren wurden den Blüten kurz vor ihrem Aufspringen entnommen; nach dem Aufplatzen wurde der von den Antherenhüllen getrennte Pollen in verdunkelten Exsikkatoren bei 18—21° C aufbewahrt.

2. Methode der Pollenkeimung.

Es galt hierbei, die zur Analyse erforderlichen 40 bzw. 80 mg Pollen (s. unten) erstens zu gleichmäßiger Keimung anzuregen, zweitens keimen zu lassen und drittens nach der Keimung quantitativ in die Analyse zu bringen. Dazu wurden Glasplatten (10 × 10 cm, 0,5 mm dick) benutzt, auf die mit angeschliffenem Objektträger dünne Filme von Zuckeragar (1% Agar-Agar und 10% Rohrzucker in doppelt destilliertem Wasser) aufgetragen wurden[1]. Die Zuckeragar-Filme waren rasch lufttrocken, und nun wurden die Platten auf einer Analysenwaage auf 0,5 mg genau gewogen; sodann wurde mit einem feinen Pinsel Pollen aufgestäubt, und zwar innerhalb einer Schablone, die die lichte Kreisfläche einer Petrischale frei ließ, und schließlich wieder gewogen. Damit war das Frischgewicht des aufgetragenen Pollens ermittelt. Eine Platte trug z. B. bei *Digitalis purpurea* im Durchschnitt 12 mg Pollen, so daß für einen Versuch etwa 4 bzw. 8 Platten (40—80 mg Pollentrockensubstanz) notwendig waren[2]. Die Platten wurden nun umgewendet und als Deckel auf die unteren Hälften von Petrischalen, die halb mit Wasser gefüllt waren, mit 1%igem Agar aufgeklebt. Diese großen Keimkammern nach dem Modell VAN TIEGHEMS (1869) wurden dann während meistens 5 Std in einen Thermostaten bei 25° C gebracht. Vor dem Ansetzen der Fermentsuspension fand unter dem Mikroskop eine Prüfung jeder Keimschale auf ihre Keimprozente hin statt.

3. Bereitung der Fermentsuspension.

Zur Fermentanalyse mußten die Zellen gesprengt werden. Zerstörung mittels flüssiger Luft mißlang, weil der Wassergehalt des Pollens so gering ist, daß ein

[1] Alle Lösungen wurden immer in Aqua bidest. angesetzt, alle Glasinstrumente stets durch Chromschwefelsäure völlig fettfrei gemacht, und alle Chemikalien waren, wenn nicht anders angegeben, „pro analysi".

[2] Es mußten stets einige überzählige Platten gerichtet werden, falls, wie es gelegentlich vorkam, auf einzelnen Platten aus unbekannter Ursache keine Pollenkeimung stattgefunden hatte.

Sprengen der Zellen durch Gefrieren des Zellsaftes nicht eintritt[1]. Deshalb wurde der trockene Pollen im Achatmörser sehr sorgfältig zerrieben; die mikroskopische Prüfung zeigte immer nur wenige unverletzte Pollenkörner. Das gemörserte Pollenmaterial wurde dann über konzentrierter Schwefelsäure im Vakuumexsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, die schon nach 6 Std erreicht war. Dies ist von Bedeutung, weil für die Untersuchung der Fermentaktivität autolytische Vorgänge ausgeschaltet sein müssen (Nilsson und Alm, 1936). Das getrocknete, gemörserte Material konnte längere Zeit im dunklen Exsikkator aufbewahrt werden, ohne daß ein Verlust an Fermentaktivität eintrat. Im Gegensatz zu Beobachtungen von Oparin und Risskina (1932) an Blattamylase zeigten getrocknetes und ungetrocknetes Pollenmaterial (*Digitalis purpurea*) gleich hohe Fermentaktivität[2]. Das war wichtig zu wissen, da bei den späteren Untersuchungen getrockneter, ungekeimter und ungetrockneter, gekeimter Pollen in ihren Fermentaktivitäten miteinander verglichen werden sollten. Wurde dagegen gekeimtes Material getrocknet, so verringerte sich die Fermentaktivität sehr wesentlich (Tabelle 1).

Bei den Analysen mit gekeimten Pollen geht der Agar in die Fermentsuspension ein. Er könnte hier nun entweder durch seinen Gehalt an freien Phosphationen die Phosphatasetätigkeit hemmen oder auch aktivierend auf sie wirken. Bei den vorgenommenen Prüfungen zeigte sich aber, daß der Gehalt an freiem Phosphat sehr gering (0,2 γ P) und daß keine Aktivierung zu bemerken war. Zum Beispiel war die Phosphataseaktivität bei *Amaryllis belladonna* ohne Agar 58,3 γ P, mit Agar 57,5 γ P (Expositionszeit 15 min).

Von dem trockenen, gemörserten Pollenmaterial wurden für die Untersuchung auf Amylase bzw. Invertase 40 mg, auf die von Phosphatase dagegen 80 mg je Ansatz gebraucht. Das pulverisierte Material wurde dazu mit etwa 1 cm³ Wasser in einer Porzellanreibschale angerieben und dann quantitativ in einen 20 cm³ Meßkolben übergespült, wobei 10 cm³ der Flüssigkeit aus Pufferlösung bestand. Es zeigte sich nämlich, daß die Fermentaktivität höher liegt, wenn die Fermentsuspension bereits den optimalen p_H-Wert des zu untersuchenden Fermentes besitzt. (Phosphataseaktivität bei *Digitalis*-Pollen ohne Pufferzusatz 31,2 γ P, mit Pufferzusatz 56,4 γ P, bei 15 min Expositionszeit.) Die Pollensuspension wurde nach gutem Umschütteln in 50 cm³ Erlenmeyer-Kolben gegeben und zur

Tabelle 1. *Rückgang der durch Keimung gesteigerten Phosphatase- und Amylaseaktivität nach Trocknung des gekeimten Pollens (Digitalis purpurea).*

	Phosphataseaktivität in γ P nach		Amylaseaktivität in Milligramm Maltose nach	
	15 min	40 min	4 Std	6 Std
Getrockneter, ungekeimter Pollen . . .	50,6	98,6	0,225	0,688
Gekeimter, getrockneter Pollen	56,6	92,2	0,246	0,688
Gekeimter, ungetrockneter Pollen . . .	86,7	145,0	1,610	außerhalb des Meßbereiches

[1] Todd und Bretherick (1942) geben bei *lufttrockenen* Pollen (34 Arten) Wassergehalte zwischen 3,91 und 17,4% an. Ich stellte den Feuchtigkeitsgehalt des *frischen* Pollens fest und fand ihn zwischen 4 und 22%, im Mittel der untersuchten 20 Arten bei 8,7%.

[2] Die Zahlenwerte aller 3 Fermente beziehen sich stets auf 1 mg Trockensubstanz. Die Untersuchungen wurden immer bei 2 Expositionszeiten vorgenommen, wenn auch nicht immer beide angegeben werden.

Vorwärmung während 30 min im Wasserbad bei 38° C exponiert. Da in der Suspension auch autolytische Vorgänge erfolgen, wurde stets genau die gleiche Zeitdauer von 30 min zur Erwärmung eingehalten, so daß jedenfalls die gewonnenen Werte relativ einwandfrei sind. Die Fermentsuspension wurde ohne weitere Reinigung oder Zusätze zur Prüfung der Fermentaktivität verwandt, da sich gezeigt hatte, daß beim Filtrieren aktives Ferment am Filter adsorptiv gebunden zurückbleibt und beim Extrahieren gebundenes Ferment durch Proteolyse in Freiheit gesetzt wird (NILSSON und ALM, 1936).

4. Bereitung der Substrat- und Pufferlösungen.

a) Phosphatasesubstrat. Der Phosphatase wurde, da es sich um eine Monophosphoresterase handelte, Natrium-β-Glyzerophosphat (Merck) zur Hydrolyse geboten. Diese Verbindung zeigt in Wasser gelöst den p_H-Wert 8,24. Der optimale p_H-Bereich für die Phosphatasetätigkeit liegt, wie Versuche mit Pollen zeigten (Abb. 1), zwischen $p_H = 5{,}2$ und 5,6, was dem Wirkungsoptimum der *Sojabohnen*-Phosphatase (GIRI, 1937) entspricht. Abb. 2 zeigt, daß eine alkalische Phosphatase im Pollen fehlt; denn die Kurve sinkt mit steigendem p_H beständig ab. Das bedeutet, daß im alkalischen Milieu die Wirkungsbedingungen der sauren Phosphatase schlechter werden und daher ihre Aktivität schwindet. Bei Vorhandensein einer alkalischen Phosphatase müßte ein zweites Optimum etwa zwischen $p_H = 8$—10 auftreten.

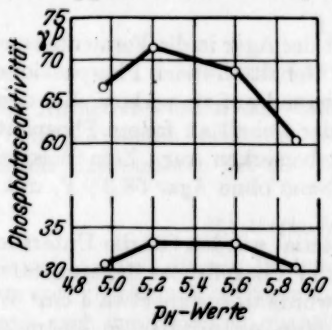


Abb. 1. Darstellung des optimalen p_H-Bereiches der Phosphatase (*Fritillaria imperialis*).

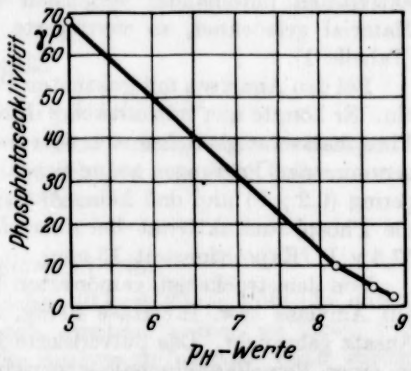


Abb. 2. Prüfung auf das Vorhandensein einer alkalischen Phosphatase (*Digitalis purpurea*).

Um die Fermentuntersuchungen bei konstantem p_H-Wert durchzuführen, wurde der Essigsäure-Natriumazetat-Puffer nach MICHAELIS (BAMANN und MYRBÄCK, 1941) verwendet, aber nicht, wie dort angegeben, in 1/10, sondern in 1/1 Normalität. Da sich herausstellte, daß das Ferment-Substratgemisch den p_H-Wert um 0,1—0,15 p_H ins alkalische Gebiet verschiebt, wurde die Pufferlösung auf $p_H = 5{,}2$ angesetzt. Die Azidität von Pufferlösung und Ferment-Substratgemisch wurde fortlaufend überprüft. Für die Messungen diente das elektrische Ionometer (LAUTENSCHLÄGER) mit Kalomel- gegen Chinhydronelektrode. Das Natrium-β-Glyzerophosphat wurde mit unverdünnter Pufferlösung angesetzt. Die Substratkonzentration war 1,5%ig; im Digestionsgemisch (Fermentsuspension und Substratlösung wurden im Verhältnis 1:1 gemischt) demnach 0,75%ig. Die Substratlösung wurde wie die Fermentsuspension 30 min vor Versuchsbeginn zum Vorwärmen im Wasserbad exponiert.

b) Amylasesubstrat. Zur Messung der Amylaseaktivität wurde die Fermentsuspension mit löslicher Stärke nach SULKOWSKY versetzt. Um bei den geringen

Pollenmengen die Fermentsuspension nicht unnötig zu verdünnen, wurde die Substratkonzentration hoch gewählt. Die Stärkelösung, 8%ig angesetzt, im Digestionsgemisch 4%ig, entsprach einer für die Fermentreaktion etwa optimalen Konzentration. Wie Abb. 3 zeigt, würde eine weitere Konzentrierung der Stärkelösung nur noch geringe Steigerung der Aktivität bewirkt und zu Schwierigkeiten bei der Messung an reduzierenden Restsubstanzen geführt haben. Denn bei der hohen Stärkekonzentration engt die ebenfalls hohe Restreduktion den Meßbereich ein.

Die Substratlösung wurde mit dem Phosphatpuffer nach SÖRENSEN gepuffert. Die beiden Pufferkomponenten wurden vor jedem Versuch so gemischt, daß ein p_H-Wert von 5,8 resultierte. Der optimale p_H-Bereich der im Pollen vorliegenden Amylase ergab sich zwischen $p_H = 5{,}6$ und 6,0 [Versuche mit *Tulipa*- und *Lilium*-Pollen (Abb. 4)].

c) Invertasesubstrat. Als Substrat der Invertase diente Rohrzucker (Handelsware), und zwar in 10- bzw. 5%iger Lösung im Digestionsgemisch (Substrat und

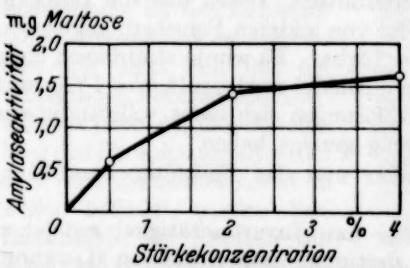


Abb. 3. Abhängigkeit der Amylaseaktivität von der Substratkonzentration.

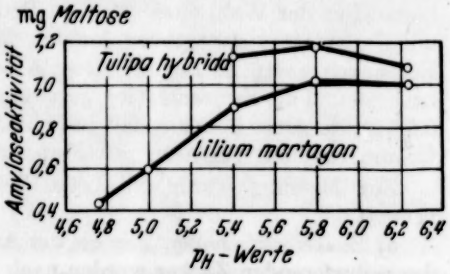


Abb. 4. Darstellung des optimalen p_H-Bereiches der Amylase.

Fermentsuspension wurden wieder im Verhältnis 1:1 gemischt). Nach NELSON und SCHUBERT (1928), sowie AUDEN, ALLDEN und DAWSON (1931) werden Zuckerkonzentrationen über 10% nicht mehr so rasch gespalten. Wie bei der Phosphatase wurde der Essigsäure-Azetatpuffer in 1/1 Normalität verwandt. Der optimale p_H-Wert für die Invertase liegt bei 4,5 (MICHAELIS und DAVIDSOHN, 1911).

5. Wahl der Expositionszeiten.

Die Substrat- und Fermentlösungen wurden jeweils 30 min bei 38° C vorgewärmt, dann im Verhältnis 1:1 gemischt und für eine jedem Ferment spezifische Expositionszeit im Wasserbad belassen. Für die Phosphatase und Invertase wurden kurze Expositionszeiten gewählt, nämlich 15 und 30 min, da diese schnellwirkenden Fermente im allgemeinen nur kurze Zeit im Sinne einer monomolekularen Reaktion arbeiten und dann ermüden. Bis 30 min war das aber noch nicht der Fall, wie Versuche mit *Digitalis*-Pollen für Phosphatase und mit *Lilium*-Pollen für Invertase ergaben.

Bei der Invertase wäre die Verwendung langer Expositionszeiten unbedenklich gewesen, denn bei Prüfungsversuchen verlief die Fermentreaktion mindestens 9 Std lang proportional der Zeit, ohne daß Ermüdung eintrat. Trotzdem wurde auch hier immer 15 und 30 min exponiert, weil die anfallenden Mengen reduzierender Zucker sonst aus dem Meßbereich herausgeschlagen wären.

Zu den oben genannten Zeitpunkten, also nach 15 bzw. 30 min bei Phosphatase und Invertase, wurden den Reaktionsgemischen aliquote Volumina entnommen und nach sofortiger Sistierung der Fermentreaktion der Analyse zugeführt. Bei der Amylasebestimmung wurden Proben nach 4 und 6 Std entnommen. Monomolekular verlief die Amylasereaktion mit Sicherheit über 4 Std.

Die im Pollen vorhandenen freien Phosphationen und reduzierenden Stoffe mußten in Abzug gebracht werden, weil sie die zu prüfende Fermentaktivität fälschlich erhöht hätten. Bei der Phosphatasebestimmung wurde zur Erfassung des Restphosphors ein Parallelansatz gemacht, in dem Fermentsuspension mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:1 gemischt wurde.

Bei Amylase- und Invertasebestimmungen wurden sofort nach Mischung von Substrat und Fermentsuspension Proben entnommen und daraus die Restreduktion ermittelt.

6. Bestimmungsmethoden der Spaltprodukte.

a) Phosphatbestimmung. Die Phosphataseaktivität wurde an der Menge der Phosphationen gemessen, die aus der Substratlösung des Glycerophosphates abgespalten waren (Methode von LOHMANN und JENDRASSIK, 1926). Die einzige Veränderung gegenüber der Originalmethode, die vorgenommen werden mußte, bestand in der Wahl eines anderen Reduktionsmittels: Weder das von LOHMANN und JENDRASSIK angegebene Amidol, noch das von anderen Forschern angegebene Eikonogen waren zu Beginn dieser Arbeit verfügbar. Es wurde stattdessen Metol benutzt und die Konzentration gegenüber dem Amidol verdoppelt, also 1%ig statt 0,5%ig, da sonst hochkonzentrierte Phosphatlösungen sich nicht vollständig ausfärbten, wie die Versuche mit Standardlösung gezeigt haben.

Zur Messung wurde ein Leitz-Photometer und das Farbfilter $\lambda = 666\ m\mu$ benutzt.

b) Zuckerbestimmung. Die bei der Amylase- bzw. Invertasetätigkeit entstehenden reduzierenden Zucker wurden nach der Bestimmungsmethode von HAGEDORN und JENSEN (1923) gemessen. Im folgenden werden — den Spaltprodukten der Fermente entsprechend — bei der Invertase die Ergebnisse in Milligramm Glukose, bei der Amylase in Milligramm Maltose angegeben (nach WEISE und BRAND, 1933).

Die Fermentaktivitäten aller 3 Fermente beziehen sich stets auf 1 mg Trockensubstanz an Pollen. Leider waren im allgemeinen keine Doppelfermentansätze möglich, weil die Menge völlig gleichartigen Pollenmaterials dafür nicht ausreichte. In einer Reihe von Fällen konnten sie doch durchgeführt werden und zeigten dann stets, daß die Werte nicht weiter differierten als die der parallel entnommenen Proben eines Ansatzes. Die Versuche wurden jedoch zum großen Teil mehrfach wiederholt, wobei die absoluten Zahlenwerte sehr unterschiedlich ausfielen; es war daher nicht sinnvoll, Mittelwerte zu berechnen. Die relative Änderung der Werte aber blieb gewahrt. Bei jeder Probeentnahme wurden 4 Parallelproben entnommen, bei jedem Fermentansatz also 8 Bestimmungen ausgeführt, mit den Restbestimmungen insgesamt also 12. Die Fehlerberechnungen haben ergeben, daß für die Phosphatbestimmung die Fehlergrenze unter 5% lag, für die Zuckerbestimmung dagegen um 10%.

7. Bestimmung der Phosphataselokalisation.

Frischer, keimfähiger Pollen wurde auf einen Tropfen Keimsubstrat (1% Agar, 10% Rohrzucker und 1‰ lösliche Stärke) aufgestäubt, der nicht, wie sonst üblich, auf Deckgläschen, sondern auf Objektträgern aufgetragen war, die zur anschließenden Herstellung von Präparaten geeigneter waren. Der Objektträger wurde mit Hilfe von Agar umgekehrt auf kleine Ringfeuchtkammern aufgeklebt. Die Kammern wurden zur Keimung des Pollens in Thermostaten von 25° C gebracht. Hatten die Pollenschläuche die gewünschte Länge erreicht, so wurden die Präparate in Azeton fixiert und durch die absteigende Alkoholreihe geführt.

Die Lokalisation der Phosphatase wurde nach der Methode von GOMORI (1946) in Abwandlung nach WOLF, CABAT und NEWMAN (1943) bestimmt: Dazu werden

die Objektträger bei 38° C in gepuffertem Phosphatasesubstrat exponiert (bei unseren Untersuchungen erwiesen sich 20 min Expositionszeit als günstig). Das Substrat enthält noch Bleinitrat, mit dem sich die freiwerdenden Phosphationen zu Bleiphosphat umsetzen. Der anhaftende Überschuß an Substratlösung wird durch Wässern von den Objektträgern entfernt. Nach Einführen in eine Ammoniumsulfidlösung setzt sich das Bleiphosphat in schwarzes Bleisulfid um. Die entstehende Schwärzung ist den abgespaltenen Phosphationen äquivalent und zeigt den Ort der arbeitenden Phosphatasemoleküle an (Abb. 5). Zur Ermittlung des Phosphatgehaltes, der sich *ohne* Fermenttätigkeit in Pollen befindet, werden Parallelansätze der gleichen Objekte in Substratlösung exponiert, die kein Natrium-β-Glyzerophosphat enthalten. Die in diesen Präparaten vorhandenen freien Phosphationen setzen die gleiche Reaktionskette in Gang und zeigen dies durch schwache Schwärzung oder Bräunung an (Abb. 6).

Abb. 5. Die Schwärzung (Bleisulfid) ist der Nachweis der Phosphatase. Substrat *mit* Glyzerophosphat (*Impatiens Olivieri*).

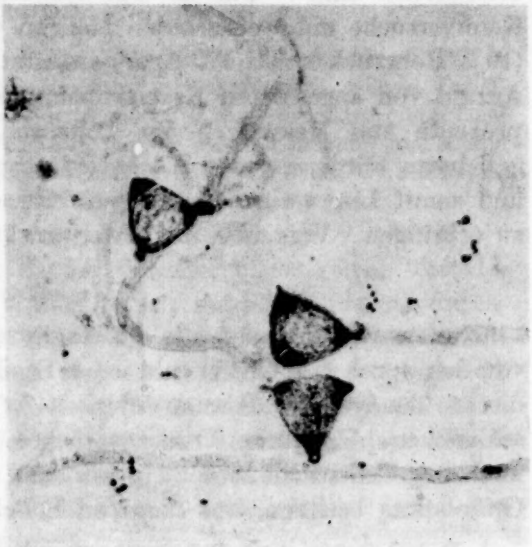


Abb. 6. Die geringe Schwärzung (gegenüber Abb. 5) ist der Nachweis des Restphosphates. Substrat *ohne* Glyzerophosphat (*Impatiens Olivieri*).

Leider gibt die Gomorische Methode die Fermentaktivität nicht absolut quantitativ an, sondern nur relativ. Denn erstens wird durch das Fixieren ein Teil der Fermentmoleküle zerstört, und zwar mehr als 50% (Neumann, 1950), und zweitens ist zu beobachten, daß wahrscheinlich auf der Stufe der Bleiphosphatbildung eine Diffusion der Moleküle stattfindet. Außer der Färbung in den Pollenschläuchen war nämlich in den Präparaten häufig auch der Agar in der Nähe der Pollenkörner oder -schläuche braun gefärbt. In manchen Präparaten war deutlich zu erkennen, daß dieses Abwandern der Moleküle eine Beziehung zur Schwerkraft hatte: Die senkrecht stehenden Präparate wiesen unterhalb des Pollens Schwärzungsbahnen auf. Innerhalb der Pollenschläuche

wurden solche Diffusionsbilder nicht beobachtet. Die Phosphatasezentren waren in ihnen ziemlich scharf begrenzt; häufig war die Schwärzung in den Schläuchen aus distinkten Punkten zusammengesetzt. Es ist anzunehmen, daß der Protoplast einer Diffusion in so kurzer Zeit stärkere Widerstände entgegensetzt als die Pollenmembran. Die Verteilung der Schwärzung innerhalb des Pollenschlauches ist demnach als wirkliches Bild der Phosphataseverteilung zu werten.

Die gefärbten Präparate wurden in Dauerpräparate umgewandelt, so daß sie auch später noch wieder überprüft werden konnten.

II. Vorversuche.

A. Fermentaktivierung in keimendem Pollen durch die chemische Zusammensetzung des Substrates.

1. In vitro.

Für Studien über die Fermentaktivität in Pollen und Pollenschläuchen war zunächst die Vorfrage zu lösen, ob durch Zugabe von Substanzen, die als Substrat für gewisse Fermente wirken (z. B. Stärke für Amylase), die entsprechenden Fermente in den Pollen aktiviert werden. Wären alle Pollenfermente bekannt und böte man den keimenden Pollen in physiologisch richtiger Reihenfolge[1] und Menge die Fermentsubstrate, so wäre zu erwarten, daß die Stoffumwandlung (Abbau wie Aufbau) ähnlich wie unter natürlichen Bedingungen verlaufen würde, und auch in vitro stets Pollenschlauchlängen erreicht würden, wie sie in vivo erforderlich sind[2]. Um das für die Amylase nachzuprüfen, wurden Keimversuche mit wechselnden Mengen von Stärke im Grundsubstrat (10% Rohrzucker und 1% Agar) angestellt. Doch war selbst bei großer Anzahl von angesetzten Keimproben, vielen Auszählungen der Keimprozente und Messungen der Pollenschlauchlängen keine statistisch gesicherte Förderung des Wachstums durch die Stärke zu beobachten und somit kein zwingender Beweis für die Richtigkeit der Annahme zu erbringen. Versuche mit Pektinzusätzen verliefen völlig negativ.

2. In vivo.

Nun wurde versucht, die Abhängigkeit der Pollenfermente in vivo von den durch den Griffel gebotenen Stoffen zu klären, und zwar durch direkte Analyse der Fermenttätigkeit in den Pollen bzw. den Pollenschläuchen. Geeignete Versuchsobjekte, die es erlauben, in vivo gewachsene Pollenschläuche zu gewinnen, sind Pflanzenarten, die einen Griffelkanal besitzen, aus dem die Pollenschläuche gebündelt heraus-

[1] Pollenkeimung und Pollenschlauchwachstum stellen unterschiedliche Ernährungsansprüche.

[2] In wenigen Fällen ist es gelungen, die Pollenschläuche in Keimkulturen zu in vivo erforderlichen Längen heranzuziehen: BOBILIOFF-PREISSER (1917) bei *Vinca minor*, BRANSCHEIDT (1939) bei *Taxus baccata*; in dieser Arbeit bei *Impatiens Olivieri* (Schlauchlängen von 0,8 cm) und *Thea japonica* (Schlauchlängen von 2,5 cm).

präpariert werden können. Dazu wurden Blüten von *Fritillaria pyrenaica*, *Fritillaria meleagris*, *Lilium bulbiferum*, *Lilium martagon* und *Digitalis purpurea* kastriert, die Griffel herausgeschnitten, jeweils gleichzeitig bestäubt und in Petrischalen mit feuchtem Filtrierpapier gelegt. Nach 24 Std hatten die Pollenschläuche den Griffel durchwachsen und konnten unter dem Binokular herauspräpariert werden. An diesen Pollenschlauchbündeln[1] wurde sofort nach dem Präparieren die Amylaseaktivität nach WOHLGEMUTH (1908) geprüft[2]. Sie zeigten keine oder eine nur sehr geringe Fermentaktivität.

Tabelle 2. *Amylaseaktivität trockenen, ungekeimten Pollens.*

Versuchsdatum	Pflanzenart je 100 mg Pollen in 5 cm³ Wasser suspendiert	WE $D\frac{38°}{30'}$*
26. 5. 48	*Pinus montana*	4
26. 5. 48	*Juniperus nana*	2
21. 11. 48	*Lilium martagon* . . .	64
20. 4. 48	*Fritillaria imperialis* . .	8
3. 6. 48	*Fritillaria pyrenaica* . .	64
27. 4. 48	*Tulipa Forsteriana* . .	64
1. 5. 48	*Carpinus betulus* . . .	32
20. 4. 48	*Betula verrucosa* . . .	8
3. 6. 48	*Fagus silvatica*	0
1. 5. 48	*Quercus robur*	8
23. 8. 47	*Portulaca sativa* . . .	512
5. 5. 48	*Paeonia officinalis* . .	8
13. 7. 48	*Digitalis purpurea* . . .	64

* Die Zahlen des Wohlgemuth-Testes (WE = Wohlgemuth-Einheit) geben an, wieviel Kubikzentimeter einer 1‰igen Stärkelösung von 1 cm³ Fermentlösung in einem Zeitraum von 30 min bei 38° C und optimaler Pufferung des Substrates zu Dextrinen abgebaut werden.

Die geringe Aktivität kann mehrere Ursachen haben: Erstens war die auf diese Weise gewonnene Substanzmenge sehr gering; aus 100 Griffeln von *Digitalis purpurea* ergaben sich z. B. nur 5 mg lufttrockener Pollenschläuche. Für diese kleine Materialmenge ist der Test aber viel zu grob, wie sich bei den Versuchen mit größeren Mengen trockenen Pollens (Tabelle 2) zeigte. Zweitens ist nicht sicher, ob beim Herauspräparieren alle Pollenschläuche in ihrer ganzen Länge erfaßt werden; gerade der vordere, plasmareiche Teil der Schläuche, bei dem auch die Wandsubstanz stark mit Plasma durchsetzt ist (SCHOCH-BODMER, 1945b), kann sehr leicht abreißen, womit dann die vielleicht amylolytisch wirksamste Zone verlorenginge. Ob die Untersuchung an diesen Pollenschlauchbündeln möglich ist, kann also nur mittels sehr feiner Fermentanalysen geprüft werden, wie sie etwa in der „enzymatischen Histochemie" von LINDERSTRØM-LANG (1931) durchgeführt werden; aber die dazu notwendigen Geräte und Apparaturen waren nicht zugänglich.

[1] Die Zahl der Pollenschlauchbündel betrug bei *Digitalis purpurea* und *Lilium martagon* in jedem Versuch 100, bei *Lilium bulbiferum* und den *Fritillaria*arten waren es weniger (20—70).

[2] Während des langwierigen Präparierens wurden die zarten Pollenschläuche lufttrocken.

B. Amylaseaktivität in trockenem Pollen.

Tabelle 2 zeigt die Amylaseaktivität einiger Pollenarten, wobei *Portulaca sativa* den höchsten Wert und *Juniperus nana* den geringsten erreichte. Unter den Monocotyledonen sind besonders viele Vertreter mit hoher Amylaseaktivität vorhanden, was sich in den späteren Hauptversuchen wieder zeigen wird. Das Fehlen von Amylase im Pollen von *Fagus* kann scheinbar sein, da der Test eben sehr geringe Aktivitäten nicht erfaßt.

III. Hauptversuche.

A. Biochemische Fermentbestimmung.

1. Ungekeimter Pollen.

a) Die Größenordnung der Pollenfermentaktivität. Die Aktivitätsunterschiede, die mit dem Wohlgemuth-Test zu ermitteln sind, stellten sich als sehr grob heraus, doch hatten die in Tabelle 2 aufgeführten Amylaseaktivitäten von Pollenarten orientierenden Wert[1]. Es wurde nun, um feinere Aktivitätsstufen von Fermenten zu erfassen, zu Mikrobestimmungen der Fermentspaltprodukte übergegangen, die an trockenen Pollen und an in vitro gekeimten Pollen durchgeführt wurden.

Bei den Mikrobestimmungen der Fermentaktivität, die über die Bestimmung der Absolutwerte hinausgingen und physiologische Zusammenhänge feststellen sollten, wurde überwiegend die Phosphatase untersucht. Amylase und Invertase wurden dagegen nur zur Unterstützung herangezogen. Die Phosphatasebestimmungen wurden deshalb bevorzugt, weil sie mit weit größerer Genauigkeit durchgeführt werden konnten als die der beiden anderen Fermente; außerdem, weil nach PFANKUCH (1936) die Bedeutung der Phosphatase in einer Schlüsselstellung, nämlich der Steuerung des Kohlenhydratstoffwechsels, gesehen wird. Für Amylase und Invertase erschienen hingegen einige quantitative Absolutwerte wichtig, sowie die Größenordnung ihrer Aktivitätssteigerung bzw. -abnahme bei den untersuchten pollenphysiologischen Vorgängen.

Zunächst wurde frischer, keimfähiger Pollen[2] einiger Pflanzenarten auf seine Phosphataseaktivität geprüft, um als Grundlage einen Überblick zu bekommen, in welcher Größenordnung sich die Pollenphosphataseaktivität überhaupt bewegt.

[1] Ein Vergleich der Amylase-Testergebnisse mit den durch Mikrobestimmung ermittelten Amylasewerten ist nicht ohne weiteres möglich. Es gibt bekanntlich 3 verschiedene Wirkungen der Amylase, nämlich die Stärkeverflüssigung, die dextrinierende Kraft und die Stärkeverzuckerung. Diese 3 Kräfte des Fermentes liegen aber nicht in jedem Amylasepräparat in gleich starkem Maße vor, sondern sind je nach der Herkunft der Amylase ungleich ausgebildet. In dem Wohlgemuth-Test (1908) wird die dextrinierende Kraft der Amylase gemessen. In den folgenden Hauptversuchen der Arbeit wird die Amylaseaktivität hingegen nach der Stärkeverzuckerung beurteilt.

[2] Der Pollen wurde möglichst zu Beginn der jeweiligen Blütezeit der betreffenden Art entnommen, weil sich herausgestellt hatte (s. Abschnitt b), daß der Pollen aus den ersten Blüten einer Pflanzenart die höchste Fermentaktivität besitzt.

Von den 20 untersuchten Arten (Tabelle 3) zeigte *Alnus glutinosa* mit 9,2 γ P[1] die geringste Phosphataseaktivität, *Digitalis purpurea* mit 68,2 γ P die höchste.

Um die Größe dieser Pollenfermentaktivität im Rahmen der sonst in der Natur vorkommenden Phosphataseaktivität beurteilen zu können, wurden mit der gleichen Methode auch ganz andere, nämlich tierische Objekte untersucht. Von der Prostatadrüse weiß man (KUTSCHER und WOLBERGS, 1935), daß sie die höchste Aktivität an saurer Phosphatase besitzt, und auch die Niere gilt als ein Organ relativ

Tabelle 3. *Phosphataseaktivität frischen keimfähigen Pollens verschiedener Pflanzen.*

Versuchsdatum	Pflanzenart	Phosphataseaktivitäten in γ P nach	
		15 min	30 min (mit + versehen 40 min)
7. 9. 49	*Colchicum autumnale* .	22,8	37,0
12. 9. 49	*Colchicum giganteum* .	34,7	55,5
12. 9. 49	*Hyacinthus candicans* .	16,1	23,5
9. 5. 49	*Fritillaria pyrenaica* . .	28,2	51,2
9. 5. 49	*Fritillaria meleagris* . .	17,2	38,2
22. 4. 49	*Tulipa hybrida*	23,0	51,5 (+)
6. 10. 49	*Crocus speciosus* . . .	23,6	37,7
23. 3. 50	*Crocus vernus*	35,7	54,8
6. 9. 49	*Montbretia spec.* . . .	22,4	37,4
9. 5. 49	*Clivia hybrida*	37,4	69,4
7. 12. 49	*Amaryllis belladonna* .	58,3	88,1
27. 2. 50	*Corylus americana* . .	14,2	24,6
27. 2. 50	*Alnus glutinosa*	9,2	15,9
17. 8. 49	*Anemone japonica* . . .	32,0	44,4
10. 10. 49	*Ricinus communis* . . .	59,8	88,4
26. 6. 49	*Campanula media* . . .	27,4	48,2
3. 5. 49	*Digitalis purpurea* . . .	68,2	118,0 (+)
17. 8. 49	*Digitalis ferruginea* . .	23,8	36,2
12. 9. 49	*Nicotiana tabacum* . .	67,2	96,6
26. 11. 49	*Dahlia spec.* (gelb) . .	36,3	55,3

hoher saurer Phosphataseaktivität (KAY, 1928). Die eigene Untersuchung an 2 verschiedenen Prostatadrüsen von Menschen (sie wurden mir vom Pathologischen Institut zur Verfügung gestellt) ergab 354 und 338 γ P, die von Nierenrinde des Rindes (vom Schlachthof in Göttingen) dagegen nur 4,5 γ P. Die Phosphataseaktivität des Pollens bleibt also hinter der Prostata um fast eine Größenordnung zurück, während die der Nierenphosphatase etwa eine Größenordnung unter der der Pollenphosphatase liegt.

Im pflanzlichen Bereich gilt die Blattphosphatase als vergleichsweise hochaktiv. EHRENBERG (1949) hat als Phosphataseaktivitätswerte der Primärblätter von *Phaseolus multiflorus* 7,8—39,5 γ P gefunden, wobei der Mittelwert aus 68 Bestimmungen bei 20,5 γ P lag. Diesen Bereich schließt die Pollenphosphatase ein; sie geht aber um fast das Doppelte über ihn hinaus. — Auch sonst sind noch Angaben über pflanzliche Phosphataseaktivität in der Literatur vorhanden, die aber

[1] Wenn nicht anders angegeben, beziehen sich alle Phosphatasewerte auf 1 mg Trockensubstanz, 15 min Exposition und 38° C.

in anderen Werten, nämlich Phosphataseeinheiten = PE[1] nach ALBERS (1935) angegeben sind. Rechnet man die Werte der Pollenphosphatase in PE um, so erhält man für trockenen, ungekeimten Pollen 0,3 (*Alnus glutinosa*) bis 1,4 PE (*Digitalis purpurea*), für gekeimten Pollen (*Digitalis purpurea*) 1,9 PE. Demgegenüber gibt PFANKUCH (1936) für *Kartoffeln* 5—10 PE, für *Zuckerrüben* 10—15 PE und für *Oberhefe* 0,025 PE an, und GIRI (1937) fand bei 3 Tage lang gekeimten *Sojabohnen* 2,27 PE.

Die Pollenphosphatase reicht also in ihrer Aktivität zwar fast an die von Samen heran, liegt aber weit unter der von Speicherorganen, wie *Kartoffel* und *Zuckerrübe*.

Vergleicht man die Werte der Phosphataseaktivität einiger Pollenarten mit denen der Amylase- und Invertaseaktivität (Tabelle 4 und 5), so sieht man, daß die Arten hoher Pollenphosphataseaktivität geringe Aktivität der beiden anderen Fermente zeigen und umgekehrt; und weiter, daß unter den *Dicotylen* Vertreter hoher Pollenphosphatase-

Tabelle 4. *Amylaseaktivität frischen keimfähigen Pollens verschiedener Pflanzen.*

Versuchsdatum	Pflanzenart	Amylaseaktivität in Milligramm Maltose nach	
		4 Std	6 Std
16. 2. 50	*Cupressus Benthami* .	0,164	0,342
17. 2. 50	*Corylus Avellana* . .	0,066	0,220
24. 2. 50	*Corylus americana* . .	0,527	1,378
7. 3. 50	*Alnus glutinosa* . . .	0,488	0,621
29. 3. 49	*Thea japonica*	0,812	—
7. 5. 49	*Digitalis purpurea* . .	0,499	0,795
4. 10. 49	*Nicotiana tabacum* . .	0,935	1,307
8. 9. 49	*Colchicum autumnale* .	0,163	0,333
24. 4. 49	*Fritillaria meleagris* .	2,135	außerhalb des Meßbereiches
26. 4. 49	*Tulipa hybrida* . . .	1,183	1,666
8. 10. 49	*Montbretia spec.* . . .	1,025	1,530
7. 3. 50	*Amaryllis spec.* . . .	0,893	1,160

Tabelle 5. *Invertaseaktivität frischen Pollens verschiedener Pflanzen.*

Versuchsdatum	Pflanzenart	Invertaseaktivität in Milligramm Glukose nach	
		15 min	30 min
1. 3. 50	*Corylus americana* . .	0,000	0,000
1. 3. 50	*Alnus glutinosa*	0,050	0,120
14. 7. 49	*Digitalis purpurea* . .	0,100	0,260
4. 10. 49	*Nicotiana tabacum* . .	0,100	—
8. 9. 49	*Colchicum autumnale* .	0,230	0,390
9. 8. 49	*Montbretia spec.* . . .	1,770	3,220
1. 10. 49	*Hyacinthus candicans* .	0,310	0,710
8. 4. 50	*Clivia hybrida*	1,800	3,580

[1] 1 Phosphataseeinheit = PE nach ALBERS (1935) entspricht die Fermentmenge, die unter optimalen Bedingungen aus Na-β-Glyzerophosphat in 1 Std 0,1 mg P abspaltet, berechnet auf 1 mg Trockensubstanz.

aktivität vorherrschen, bei den *Monocotylen* solche mit hoher Pollenamylase- oder Invertaseaktivität. Nur in einem einzigen Fall waren nur 2 der untersuchten Fermente vorhanden, nämlich bei *Corylus americana*, wo die Invertase fehlte. Auch gekeimter Pollen dieser Art zeigte keine Invertaseaktivität. Dazu ist zu bemerken, daß schon GREEN (1894) beobachtet hat, daß in einzelnen Pollenarten Amylase oder Invertase fehlen kann, während PATON (1921) angibt, daß stets beide Fermente im Pollen vorhanden seien.

Die Schwankungsbereiche, in welchen sich die Fermentaktivitäten bewegen, sind sehr unterschiedlich für die 3 Fermente: Während bei der Phosphatase geringste und höchste Aktivität sich wie 1:7 verhalten, ist das Verhältnis bei Amylase 1:32, bei Invertase 1:35.

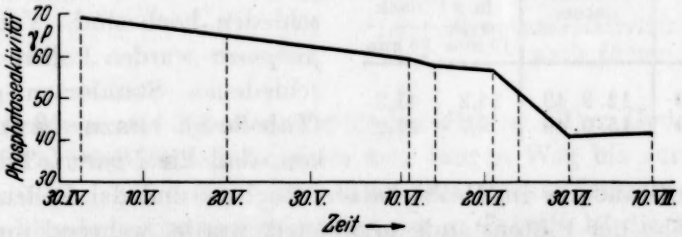


Abb. 7. Abnehmende Phosphataseaktivität bei frischen Pollen im Ablauf der Blütezeit (*Digitalis purpurea*, Botanischer Garten).

Auffällig ist die außerordentlich geringe Aktivität aller 3 Fermente von *Colchicum autumnale* (Griffellänge 15 cm)[1]. Auch die windbestäubenden Baumpollen zeigten sehr geringe Fermentaktivität.

b) Einfluß des Blütenalters auf die Pollenfermentaktivität. Da zu den Fermentanalysen Pollen aus einer großen Anzahl von Blüten genommen und vermischt werden mußten, tauchte die Frage nach der Einheitlichkeit des Materials auf. Deshalb wurde eine Versuchsreihe über 2 Monate mit *Digitalis*-Pollen eines geschlossenen Pflanzenbestandes des Botanischen Gartens gemacht. Der Pollen zu jedem Versuch wurde aus Blüten etwa gleicher Höhe der Infloreszenzen entnommen und gemischt (*Digitalis* hat akropetale Blühfolge). Abb. 7 zeigt, wie die Fermentaktivität im Verlauf der Blütezeit absank. Auch in einem Versuch mit *Colchicum autumnale* (Tabelle 6) kam dieses Absinken der Pollenfermentaktivität zum Ausdruck, und zwar sehr stark schon innerhalb von 5 Tagen, wobei betont werden muß, daß bei dem damals herrschenden sehr warmen, sommerlichen Wetter die *Herbstzeitlosen* sehr rasch abblühten.

[1] Vielleicht liegen bei *Colchicum* Hemmstoffe vor, die etwa Koagulation der Eiweißstoffe bewirken; Eiweißkoagulate binden nämlich Fermente adsorptiv an ihrer Oberfläche und machen sie unwirksam (OPARIN, MANSKAJA und GLASUNOW, 1934).

Beide Versuche deuten darauf hin, daß offenbar in den erstausgebildeten Blüten einer Pflanze die Fermentmenge des Pollens am größten ist. Wenn nun die Fermentmenge eine wesentliche Rolle bei der Pollenkeimung und dem Pollenschlauchwachstum (vgl. spätere Versuche) und damit auch für den Befruchtungserfolg spielt, so sind offenbar die ersten Blüten einer Pflanze mit ihrer hohen Fermentaktivität gegenüber den späteren bezüglich der Sicherheit der Samenbildung im Vorteil.

Tabelle 6. *Abnahme der Phosphataseaktivität im Ablauf der Blütezeit* (Pollen von *Colchicum autumnale*, Herberhausen).

Sammeldatum	Versuchsdatum	Phosphataseaktivität in γ P nach	
		15 min	30 min
9. 9. 49	12. 9. 49	26,2	41,2
14. 9. 49	15. 9. 49	8,7	11,2

c) Standort der Pflanzen und Pollenfermentaktivität. Versuche mit *Colchicum autumnale* (Tabelle 7) zeigten, daß je nach den Standortsverhältnissen Amylase- und Phosphataseaktivität des Pollens verschieden hoch sind. Von *Digitalis purpurea* wurden Pollen von 4 verschiedenen Standorten gesammelt (Tabelle 8). Dazu ist zu bemerken, daß die *Digitalis*-Pflanzen der 3 ersten Standorte im Halbschatten wuchsen und der Pollen aus mittlerer Höhe der Blütenstände gesammelt wurde, während im Harz die *Fingerhüte* auf freier, sonniger Halde standen und der Pollen von diesem Standort etwa 2 Monate später aus den obersten, letzten Blüten der Blütenstände eingesammelt wurde. Trotzdem lag der Phosphatasewert des Pollens der Harzpflanzen bedeutend höher. Sicher spielt also auch der Vitalitätsgrad der Pflanzen eine Rolle für die Höhe der Fermentaktivität des Pollens. Unter den ähnlichen Außenbedingungen der 3 ersten Standorte (Pollen innerhalb von 12 Tagen gesammelt) waren die Differenzen der Phosphataseaktivität des Pollens nicht sehr groß.

Tabelle 7. *Phosphatase- und Amylaseaktivität von Pollen zweier Standorte (Colchicum autumnale).*

Standort	Phosphataseaktivität in γ P nach 15 min	Amylaseaktivität in Milligramm Maltose nach 4 Std
Weide an der Leine	22,8	0,163
Waldweide	26,2	0,032

Tabelle 8. *Standortsvariationen der Phosphataseaktivität (Digitalis purpurea).*

Sammeldatum	Versuchsdatum	Standort	Phosphataseaktivität in γ P nach	
			15 min	30 min
8. 7. 49	11. 7. 49	Göttingen, Botanischer Garten	41,4	59,7
17. 7. 49	13. 8. 49	Hann.-Münden, Wald	45,2	64,8
20. 7. 49	29. 7. 49	Voldagsen, Wald	44,4	67,0
11. 9. 49	12. 9. 49	Harz, Siebertal	54,0	80,6

d) Verwandtschaftsverhältnis der Pflanzen und Pollenfermentaktivität. Bei der Untersuchung verschiedener Arten einer Gattung und von Rassen der gleichen Art ergaben sich große Unterschiede in den Pollenfermentaktivitäten nahe verwandter Pflanzenarten; selbst 2 Rassen (von *Nicotiana tabacum*) differierten beträchtlich in ihrer Phosphataseaktivität (Tabelle 9).

Tabelle 9. *Verwandtschaftsverhältnis der Pflanzen und Pollenfermentaktivität.*

Pflanzenart	Aktivität	Ferment
Digitalis purpurea	68,2	Phosphataseaktivität in γ P nach 15 min
Digitalis ferruginea	23,8	
Corylus Avellana	0,066	Amylaseaktivität in mg Maltose nach 4 Std
Corylus americana	0,527	
Tabaksorte I	67,2	Phosphataseaktivität in γ P nach 15 min
Tabaksorte II	50,4	

e) Griffellänge und Fermentaktivität des Pollens. Der Gedanke lag nahe, daß Pollenschläuche, die einen sehr langen Weg bis zur Samenanlage zurückzulegen haben, eine besonders starke Fermentaktivität aufweisen könnten. Um das zu prüfen, ist in Tabelle 10 die Fermentaktivität der Pollen von Pflanzen mit verschiedener Griffellänge zusammengestellt.

Tabelle 10. *Griffellängen und Fermentaktivitäten des Pollens.*

Pflanzenart	Griffellänge cm	Aktivität	Ferment
Crocus speciosus	10	23,6	Phosphataseaktivität in γ P nach 15 min
Ricinus communis	1	59,8	
Digitalis purpurea	3	0,499	Amylaseaktivität in mg Maltose nach 4 Std
Fritillaria meleagris	1	2,135	
Nicotiana tabacum	4	0,100	Invertaseaktivität in mg Glukose nach 15 min
Montbretia spec.	3	1,770	

Wie man sieht, besteht nicht nur keine Proportionalität zwischen Griffellänge und Höhe der Pollenfermentaktivität, sondern die Zahlen ergeben im Gegenteil sogar ein umgekehrtes Verhältnis. So sind z. B. die Griffel von *Crocus speciosus* länger als 10 cm, die von *Ricinus communis* dagegen kürzer als 1 cm; die Phosphataseaktivitäten ihrer Pollen aber verhalten sich wie 1:2,5. Ähnlich liegen die Dinge bei den anderen beiden Fermenten.

f) Alterung und Feuchtigkeitsgehalt des Pollens in Beziehung zur Fermentaktivität. Es war wichtig zu wissen, inwieweit die Fermentaktivität vom Alter des Pollens abhängig ist. (Der Pollen wurde, wie in der Methodik angegeben, in verdunkelten Exsikkatoren bei 18—21° C

aufbewahrt.) Tabelle 11 zeigt, daß bereits nach etwa 1 Monat die Fermentaktivität erheblich abgesunken ist, und zwar die Amylaseaktivität um mehr als die Hälfte, die Phosphataseaktivität dagegen nur um etwa $^1/_{10}$.

Im Laufe eines Jahres betrug die Aktivitätsabnahme der Amylase 87%, die der Phosphatase 40%. Den Verlauf der Aktivitätsabnahme alternden Pollens zeigt die Tabelle 12.

Tabelle 11. *Abnahme der Phosphatase- und Amylaseaktivität durch Alterung des Pollens innerhalb eines Monats und eines Jahres.* (*Digitalis purpurea*, Botanischer Garten.)

Alter des Pollens	Phosphataseaktivität in γ P nach 15 min	Amylaseaktivität in Milligramm Maltose nach 4 Std
1 Tag . .	68,2	0,499
1 Monat .	50,6	0,225
1 Jahr . .	41,0	0,062

Bemerkenswert ist dabei, daß die Fermentaktivität von *Digitalis*-Pollen verschiedener Herkunft und aus verschiedenen Jahren auf einem etwa gleichen Endwert stehen bleibt (s. dazu auch den Endwert in Tabelle 11). Diese Erscheinung ist wohl durch die stets gleiche Art der Aufbewahrung zu erklären.

Der Pollen war in den verdunkelten Exsikkatoren den Schwankungen der Luftfeuchtigkeit und den Einwirkungen des Lichtes entzogen. Beide Außenfaktoren setzen die Fermentaktivität herab. Im Exsikkator nun stellt sich zwischen Pollen und Blaugel ein Gleichgewicht ein: das hygroskopische Blaugel entzieht dem Pollen zwar Wasser, jedoch wird ein bestimmter Rest an Wasser vom Pollen mit gleicher Kraft festgehalten, wie das Blaugel weiterhin Wasser aufnehmen möchte.

Tabelle 12. *Abnahme der Phosphataseaktivität bei Alterung des Pollens (Digitalis purpurea).*

Pflanzenherkunft	Alter des Pollens in Tagen	Phosphataseaktivität in γ P nach	
		15 min	30 min
Hann.-Münden	1	45,2	64,8
	9	41,4	61,2
	43	39,2	61,9
Siebertal im Harz	1	54,0	80,6
	112	42,3	70,4
	146	38,3	60,6

Das Absinken der Fermentaktivität bei alternden Pollen dürfte demnach mit der Verminderung des Wassergehaltes im Zusammenhang stehen. Diese Korrelation zeigt Tabelle 13 für alternden *Tabak*-Pollen; doch geht aus den Zahlen hervor, daß keine Proportionalität zwischen den beiden Abläufen besteht.

Eine weitere Möglichkeit, diese Zusammenhänge zu prüfen, ergab sich aus der Tatsache, daß Pollen verschiedenen Entwicklungsgrades sich im Wassergehalt unterscheiden. Unreifer Pollen erwies sich als sehr wasserreich, reifer entsprechend wasserärmer[1]. Tabelle 14 zeigt, daß mit

[1] Bei *Campanula media* konnte der unreife Pollen ohne Schwierigkeiten den Antheren entnommen werden. Der Feuchtigkeitsgehalt konnte leider nicht genau festgestellt werden, da während des Präparierens schon Wasser verdunstet wurde.

abnehmendem Wassergehalt des Pollens seine Fermentaktivität sinkt. (NEMEC 1928 fand ähnliches bei reifender *Sojabohnen*-Saat.)

Die Fermentaktivität spiegelt also den jeweiligen Feuchtigkeitsgrad des Pollens wider. Das ist auch verständlich, denn der Gehalt an Wasser bedingt einen bestimmten Kolloidzustand des Plasmas, so daß von ihm die Fermentaktivität des Pollens sehr stark abhängen muß. Mit dem Feuchtigkeitsgehalt steht auch die „Funktionsbereitschaft" (BÜNNING, 1939) des Pollens im Zusammenhang: Der stabile und damit resistente Zustand des Lebens im „ruhenden" Pollenkorn, dessen Atmung eine minimale ist, wird bestimmt durch seinen geringen Wassergehalt.

Tabelle 13. *Korrelation zwischen Wassergehalt und Fermentaktivität (Nicotiana tabacum).*

Versuchsdatum	Wassergehalt	Phosphataseaktivität in γ P nach	
		15 min	30 min
12. 9. 49	16,6	67,2	96,6
10. 10. 49	8,45	52,8	82,8
28. 11. 49	4,85	52,0	81,8

Tabelle 14. *Absinken der Phosphataseaktivität mit Abnahme des Feuchtigkeitsgrades des Pollens (Campanula media).*

Feuchtigkeitsgrad des Pollens	Zustand der Blüten und Antheren	Phosphataseaktivität in γ P nach	
		15 min	30 min
Pollenmasse breiig-flüssig (unreifer Pollen)	Blüten geschlossen, Antheren geschlossen	35,2	57,6
Pollenmasse feucht (unreifer Pollen)	Blüten geschlossen, Antheren offen	34,0	51,6
Pollenmasse trocken (reifer Pollen)	Blüten offen, Antheren offen	27,4	48,2

2. Pollenkeimung und Fermentaktivität.

Zu prüfen war zunächst, wie sich die Fermentaktivität des Pollens verhält, wenn bei der Keimung sein Wassergehalt durch Quellung wieder ansteigt. Dazu wurden Pollen von *Digitalis purpurea* unter den in der Methodik angegebenen Bedingungen zur Keimung gebracht. Seine Fermentaktivität war nach 1 Std gegenüber dem Wert des trockenen Pollens nicht erhöht, sondern zunächst verringert[1]. Nach 2 Std dagegen war die größtmögliche Steigerung nahezu erreicht (Tabelle 15).

Man muß sich wohl vorstellen, daß sich die Quellung langsam von außen ins Innere des Pollenkornes fortpflanzt, um dann ziemlich plötzlich und gleichzeitig

[1] Bei allen Keimversuchen wurde die Fermentaktivität von gekeimtem und ungekeimtem Pollen gleicher Sammelproben verglichen.

das Protoplasma zu erfassen und damit auch die Fermentelution wie die ganze Stoffwechseltätigkeit und das Wachstum auszulösen. Daß nach 1stündiger Keimung eine verminderte Fermentaktivität gemessen wurde, gegenüber trockenem Pollen, lag vielleicht daran, daß aus den ungekeimten Pollenkörnern ein Fermentaustritt oder Substrateintritt nur teilweise möglich ist. Es handelt sich bei der gesteigerten Fermentaktivität im Keimprozeß nicht oder doch nur zu einem kleinen Teil um eine Neubildung von Fermentmolekülen, sondern vielmehr um ein Freiwerden einer vorher gebundenen Fermentmenge. Die Vorstellungen über die Art des Freiwerdens der Fermente sind verschieden. Während OPARIN, MANSKAJA und GLASUNOW (1934) an ein Abdissoziieren des Fermentmoleküls von einem Eiweißträger denken, glauben C. und S. MYRBÄCK (1936), daß Proteasen die an Eiweiß gebundene Amylase durch Hydrolyse freisetzen, und schließlich nehmen CHRZASZCZ und JANICKI (1933) an, daß Fermentaktivatoren die erhöhte Amylaseaktivität, beim Malzprozeß z. B., bedingen.

Tabelle 15. *Phosphataseaktivitäten nach 2-, 6- und 12stündiger Keimung (Digitalis purpurea).*

Phosphataseaktivität in γ P nach 15 min			
trockener Pollen	2stündig gekeimter Pollen	6stündig gekeimter Pollen	12stündig gekeimter Pollen
51,0	61,1	64,0	62,4

Wie Tabelle 15 angibt, blieb die durch Keimung gesteigerte Phosphataseaktivität etwa auf dem Wert stehen, den der 2stündig gekeimte Pollen aufwies. Das Pollenschlauchwachstum dagegen war erst nach etwa 12 Std beendet. Für das Streckungswachstum des in vitro gewachsenen Pollenschlauches wies BRINK (1924 III) eine S-förmige Wachstumskurve nach. Demnach besteht keine Korrelation zwischen Phosphataseaktivität und Wachstumsgeschwindigkeit. Die Unabhängigkeit der beiden Größen voneinander sollte durch einen Versuch nachgeprüft werden, bei dem das Pollenschlauchwachstum nach 2 Std durch Einbringen der Keimschalen in den Kühlschrank (—2° C) für 2 Std unterbrochen wurde. Die vor der Unterkühlung schon erreichte, gesteigerte Fermentaktivität blieb dabei erhalten (Tabelle 16). Als die Schalen danach wieder in den Thermostaten (+25° C) kamen, wurde das Wachstum wieder aufgenommen; es war aber nicht von weiterer Steigerung der Fermentaktivität begleitet.

Tabelle 16. *Beziehung zwischen Pollenschlauchwachstum und Phosphataseaktivität (Digitalis purpurea).*

Behandlung des Pollens	Phosphataseaktivität in γ P nach	
	15 min	30 min
Trockener Pollen	58,8	84,6
2 Std Thermostat 25° C	75,0	109,0
2 Std Thermostat 25° C + 2 Std Kühlschrank —2° C . .	77,4	107,0
2 Std Thermostat 25° C + 2 Std Kühlschrank —2° C + 2 Std Thermostat 25° C	77,5	115,0

Tabelle 17. *Phosphataseaktivität bei Keimung und Quellung frischen und gealterten Pollens* (*Nicotiana tabacum*, am 11. 9. 49 gesammelt).

	Versuchsdatum	Phosphataseaktivität in γ P nach 15 min		Quotient I/II
		bei Zustand I des Pollens	bei Zustand II des Pollens	
1	12. 9. 49	trocken 67,2	gekeimt 75,8	0,89
2	10. 10. 49	trocken 52,8	nicht mehr keimfähig, 56,0	0,94
3	28. 11. 49	trocken 52,0	gequollen 55,7	0,95

Nachdem sich herausgestellt hatte, daß zwischen dem Wachstum des Pollenschlauches und der Fermentaktivität kein direkter Zusammenhang besteht, daß dagegen der Wassergehalt des Pollens mit der Fermentaktivität in Korrelation gebracht werden kann, erhob sich die Frage, ob alter, nicht mehr keimfähiger Pollen allein durch Wasseraufnahme, also Quellung, die in den vorigen Versuchen durch Keimung erzielte Aktivitätssteigerung erreichen könnte. Die Versuche wurden mit gealtertem Pollen von *Nicotiana tabacum* (1 und $1^1/_2$ Monate nach dem Sammeln des Pollens) und *Digitalis purpurea* ($1^1/_2$ Monate nach dem Sammeln) angestellt. Nachdem die Pollenkörner von *Nicotiana tabacum* 5 Std auf dem Keimsubstrat gelegen hatten, waren sie fast alle lediglich gequollen, Spitzen von Keimschläuchen zeigten sich nur ganz vereinzelt. Die Fermentaktivität war gegenüber trockenem Pollen zwar erhöht (Tabelle 17, 2 und 3), doch in geringerem Maße[1] als bei gekeimtem Pollen (Tabelle 17, 1 zum Vergleich).

Tabelle 18. *Phosphataseaktivität gealterten Pollens bei Quellung und Keimung* (*Digitalis purpurea*, gesammelt 8. 7. 49, Versuchsdatum 23. 8. 49.)

	Zustand des Pollens	Phosphataseaktivität in γ P nach 15 min
1	Trocken . . .	41,4
2	Gequollen . .	33,7
3	Geplatzt . . .	41,7
4	Gekeimt . . .	40,0

Gealterter ($1^1/_2$ Monate nach dem Sammeln) Pollen von *Digitalis purpurea* wurde auf dem üblichen Keimsubstrat von 1% Agar und 10% Rohrzucker zur Quellung gebracht. Keimungen waren dabei nicht zu beobachten. Ein Teil des gleichen Pollens wurde auf dem gleichen Substrat durch Einbringen warmen Wassers in die Keimschalen zum Platzen gebracht. Wurde der Rohrzucker im Keimsubstrat weggelassen und eine 10%ige Rohrzuckerlösung in die Keimschalen gebracht (Exsikkatorenwirkung), so zeigte der gleiche *Digitalis*-Pollen bei nunmehr verzögerter Quellung nach 5 Std Expositionszeit im Thermostaten zu 80% Keimspitzen. In keinem der 3 Fälle zeigte sich Phosphataseaktivitätssteigerung gegenüber dem trockenen Pollen (Tabelle 18).

[1] Die Steigerung der Aktivität des Fermentes ist im Quotienten der normalen zur gesteigerten Fermentaktivität wiedergegeben.

Bei nur gequollenem Pollen war die Fermentaktivität sogar gesenkt, was wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, daß die Pollenkörner gar nicht alle aufgeschlossen waren (Permeabilitätsfrage).

Die Pollenarten reagieren also offenbar verschieden und spezifisch: Während gealterter Pollen von *Nicotiana tabacum* bei Quellung eine abklingende Fermentaktivitätssteigerung zeigte, war dies bei *Digitalis purpurea* nicht der Fall. Selbst bei solchem gealterten Pollen, der noch fähig war, Keimspitzen zu bilden, zeigte sich bei *Digitalis* keine Aktivitätssteigerung der Phosphatase. Die Korrelationen zwischen Feuchtigkeitsgrad und Fermentmenge bzw. Fermentelution einerseits und zwischen Keimung und Fermentaktivität andererseits sind also keineswegs einheitlich bei den verschiedenen Pollenarten.

Tabelle 19. *Phosphataseaktivität trockenen und gekeimten Pollens von Blüten aus verschiedener Höhe der Infloreszenzen (Digitalis purpurea).*

Versuchsdatum	Phosphataseaktivität in γ P nach 15 min		Quotient I/II
	trockener Pollen (I)	gekeimter Pollen (II)	
21. 6. 49	56,8	64,0	0,885
24. 6. 49	51,0	61,1	0,836
11. 7. 49	41,4	53,9	0,770
29. 7. 49	44,4	49,5	0,895

Die Versuche an *Digitalis*-Pollen (oben Abschnitt b) haben gezeigt, daß sich die Fermentaktivität des frischen Pollens im Ablauf der Blütezeit der Infloreszenzen verringert, daß also höher am Blütenstand inserierte Blüten gegenüber den tiefer stehenden geringere Aktivität der Phosphatase ihres Pollens besitzen. Es war nun von Interesse festzustellen, wie sich bei diesen gleichen Pollenproben die Aktivitätssteigerung bei der Pollenkeimung verhält (Tabelle 19).

Wie man sieht, hielt sich die jeweilige Steigerung der Fermentaktivität bei der Keimung annähernd konstant (s. Quotient); auf jeden Fall nimmt die Steigerung nicht etwa mit der Höhe der Blüten am Blütenstand zu. Dies würde nämlich bedeuten, daß die vorgebildete Fermentmenge im Pollen aller Blüten gleich bleibt im Laufe der Blütezeit und sich nur das Verhältnis von gebundenem zu aktivem Ferment in Richtung auf das gebundene Ferment verschieben würde. Die Konstanterhaltung der durch die Keimung gesteigerten Fermentaktivität im Laufe der Blütezeit beweist erst, daß tatsächlich die Fermentmenge, die im Pollen der späteren Blüten ausgebildet wird, eine geringere ist.

Die Steigerung der Aktivität der Phosphatase durch Keimung betrug bei *Digitalis purpurea* in einem Fall (im Anfang der Blütezeit) 65%; meist war sie aber wesentlich geringer und lag zwischen 10 und 30% (Tabelle 20).

Tabelle 20. *Steigerung der Phosphataseaktivität durch Pollenkeimung bei verschiedenen Pflanzenarten.*

Versuchsdatum	Pflanzenart	Phosphataseaktivität in γ P nach 12 min		Steigerung der Aktivität in %
		trokkener Pollen	gekeimter Pollen	
12. 9. 49	*Colchicum autumnale*	26,2	29,5	12,6
10. 10. 49	*Crocus speciosus*	23,6	25,6	8,5
12. 9. 49	*Nicotiana tabacum*, Sorte I	67,2	75,8	12,8
22. 9. 49	*Nicotiana tabacum*, Sorte II	50,4	58,0	15,0
28. 5. 49	*Digitalis purpurea* (Botanischer Garten)	50,6	86,7	65,0
27. 7. 49	*Digitalis purpurea* (Voldagsen) . . .	44,4	49,5	11,4
29. 2. 50	*Corylus americana*	14,2	22,6	59,0
29. 2. 50	*Alnus glutinosa*	9,2	18,3	100

Außerordentlich groß war die Aktivitätssteigerung der Windbestäuberpollen (bis 100%).

Die Steigerung der Amylase- und Invertaseaktivität (Tabelle 21) bei gekeimtem Pollen gegenüber trockenem Pollen war weit größer als die bei der Phosphatase und lag meistens über 100%, im Extrem erreichte sie

Tabelle 21. *Steigerung der Amylase- und Invertaseaktivität bei Pollenkeimung.*

Versuchsdatum	Pflanzenart	Amylaseaktivität in Milligramm Maltose nach 4 Std		Steigerung der Aktivität in %	Invertaseaktivität in Milligramm Glukose nach 15 min		Steigerung der Aktivität in %
		trockener Pollen	gekeimter Pollen		trockener Pollen	gekeimter Pollen	
8. 10. 49	*Montbretia spec.* . . .	1,025	1,648	62	—	—	—
20. 9. 49	*Colchicum autumnale* .	0,163	0,429	164	0,110	0,382	247
22. 9. 49	*Nicotiana tabacum* . .	0,935	1,100	15,2	0,100	0,642	542
31. 5. 49	*Digitalis purpurea* . .	0,225	1,610	635	0,100	0,300	200
24. 2. 50	*Corylus americana* . .	0,527	0,870	65	—	—	—

635% (Amylase bei *Digitalis purpurea*) und 542% (Invertase bei *Nicotiana tabacum*).

Im ganzen gesehen schwankten die Aktivitätssteigerungen der Fermente also sehr stark, was auf die Schwierigkeiten der Pollenkeimung in vitro zurückzuführen ist.

B. Histochemische Bestimmung der Phosphataselokalisation.

An kurzen Pollenschläuchen, die in 2 oder 3 Std gewachsen sind, läßt sich zeigen, daß die Phosphatase aus dem Pollenkorn in den wachsenden Schlauch einwandert (Abb. 8 und 9). Doch war bei allen untersuchten Pollenarten die äußerste Spitze der *noch wachsenden* Pollen-

schläuche frei von Phosphatase. Bei längerer Keimdauer ließen sich in den Präparaten 2 Typen von Pollenschläuchen beobachten: nämlich solche, die ihr Wachstum offenbar eingestellt haben und eine keulige

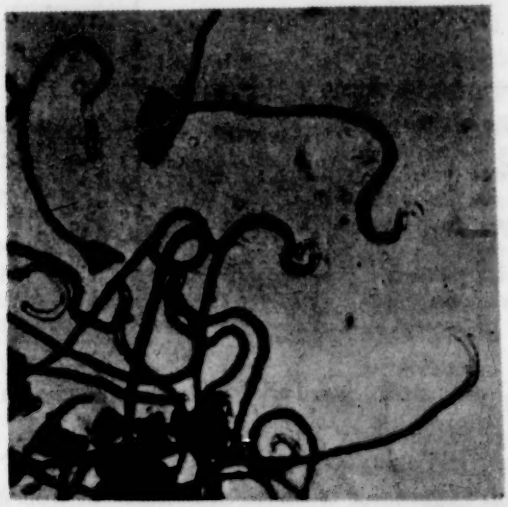


Abb. 8. *Substrat mit Glyzerophosphat.* Die Schwärzung zeigt die Lokalisation der Phosphatase in wachsenden Pollenschläuchen (nach 3 Std Keimung). In den *Spitzen* der Pollenschläuche befindet sich *keine* Phosphatase (*Impatiens Olivieri*).

Abb. 9. *Substrat ohne Glyzerophosphat.* Die Schwärzung (gering gegenüber Abb. 8) zeigt die Lokalisation des Restphosphats an (*Impatiens Olivieri*).

Anschwellung am Ende bilden, in der Literatur als „sekundäres Pollenkorn" bekannt; und andere, die lang und gerade fortwachsen und bei vielen Pflanzenarten in regelmäßigen Abständen Querwände („Kallosepfropfen") in den Schlauch einbauen (Abb. 10). Die Phosphatase befand sich bei diesen beiden Typen an ganz verschiedener Stelle. Im ersten Falle (nicht mehr wachsende Pollenschläuche) hatte sich die Phosphatase

hauptsächlich in den Endanschwellungen angesammelt (Abb. 11). Doch war der übrige Pollenschlauch nicht ganz frei von Phosphatase, vielmehr fanden sich geschwärzte Abschnitte abwechselnd mit hellen, von Phosphatase freien. Die noch wachsenden, langen Pollenschläuche waren hingegen auf weite Strecken (mehrere Millimeter) von der Spitze her völlig phosphatasefrei. Wenn Kallosepfropfen vorhanden waren, so

Abb. 10. Die Kallosepfropfen sind in regelmäßigen Abständen in den Pollenschlauch eingebaut (*Impatiens Olivieri*).

Abb. 11. „Sekundäre Pollenkörner" zeigen durch ihre starke Schwärzung, daß Phosphatase darin aufgestaut ist (*Kalanchoë Blossfeldiana*).

Abb. 12. Aufgestaute Phosphatase (Schwärzung) vor einem Kallosepfropfen. Die Schlauchspitze liegt rechts (*Thea japonica*).

staute sich die wandernde Phosphatase vor ihnen auf (Abb. 12). War aber einmal eine gewisse Phosphatasemenge mit dem Plasma vorgedrungen, ehe der Kallosepfropfen den Weg geschlossen hatte, dann staute sie sich auch vor dem folgenden Kallosepfropfen. Der Aufbau der Kallosepfropfen geht also rascher vor sich als die Vorwärtsbewegung der Fermentmoleküle im Protoplasma. Im vorderen Teil dieser Pollenschläuche war keine Phosphatase nachzuweisen, ebenso wie in den wenige Stunden gewachsenen Pollenschläuchen.

Die Phosphatase ist als zellulär arbeitendes Ferment offenbar an das Zytoplasma gebunden und nicht an die Kerne, von denen Brink (1924 III) sagt, daß sie sich wie in vivo in die Schlauchspitze begeben.

IV. Besprechung der Endergebnisse.

A. Vergleich der Fermentquantitäten.

GREEN (1894) gibt für gekeimten *Liliaceen*-Pollen eine *Steigerung* der *Amylase*aktivität um 50% und der *Invertase*aktivität um 25% gegenüber ruhenden Pollen an. In den vorstehenden Versuchen wurden im Durchschnitt viel höhere Werte gefunden: Die Steigerung der Aktivität lag bei den beiden Fermenten meistens über 100%; bei der *Phosphatase* hingegen betrug sie meist weit unter 50%. Dieser Unterschied im Verhalten der Amylase und Invertase einerseits und der Phosphatase andererseits läßt sich vielleicht folgendermaßen erklären: Schon BEHRENS (1875) hat an Querschnitten erkannt, daß es 2 Typen von Griffeln gibt, solche mit einem Griffelkanal und andere mit einem Griffelleitgewebe. Der Griffel*kanal* ist mit Papillen ausgekleidet, die oft langgestielt und keulenförmig sind und einen großen Zellkern besitzen; sie zeigen also den Charakter von Drüsenzellen. Das Griffel*leitgewebe* besteht dagegen aus langgestreckten, dünnen Zellen, deren Längswände nur sehr lose miteinander verbunden sind, so daß die Pollenschläuche sehr leicht dazwischen eindringen können. Im Griffelkanal wachsen die Pollenschläuche zwischen den Papillen, doch haben sie keinen so engen Konnex mit dem Gewebe wie diejenigen Pollenschläuche, die ein Leitgewebe durchwachsen.

Die Ausstattung des Pollens mit Fermenten ist möglicherweise auf diese Griffeltypen abgestimmt. Die *Monocotyledonen*, die in ihrer Mehrzahl einen Griffelkanal besitzen, haben nämlich, wie die Versuche gezeigt haben, in ihrem Pollen mehr Amylase oder Invertase als Phosphatase (vgl. Tabellen 3—5). Die *Dicotyledonen* dagegen, deren Griffel im Innern vorwiegend durch ein Leitgewebe[1] ausgefüllt sind, verfügen über größere Phosphatasemengen im Pollen. Zwischenformen der Griffeltypen zeigen ein entsprechendes Verhalten der Fermentaktivitäten (z. B. *Digitalis purpurea* und *Nicotiana tabacum*). Es scheint also eine Korrelation zwischen Griffelbau und Fermentaktivität des Pollens zu bestehen, die folgende Bedeutung haben könnte: Es ist denkbar, daß die Pflanzenarten mit Griffelkanal, bei denen also die Pollenschläuche nicht in so engem Konnex mit dem Griffelgewebe stehen, extrazellulär arbeitende Fermente bevorzugen. In der Tat hat BRANSCHEIDT (1930) Amylase im Pollensekret gefunden und viele andere Autoren haben die Sezernierung dieses Fermentes und auch der Invertase aus dem Pollen wie aus den wachsenden Pollenschläuchen vermutet. Für die Phosphatase dagegen konnte in unseren histochemischen Versuchen gezeigt werden, daß sie ein zellulär arbeitendes Ferment ist.

[1] RITTINGHAUS (1886) hat angegeben, daß die Pollenschläuche mit dem Leitgewebe gemeinsame Zellwände hätten.

Vielleicht ist die Steigerungsfähigkeit der Aktivität der untersuchten, extrazellulär arbeitenden Fermente deshalb weit größer als die der intrazellulär arbeitenden Phosphatase, weil sie in einem ausgedehnteren Raum zu wirken haben.

B. Außenfaktoren und Fermentaktivität bei alterndem Pollen.

Bei der *Alterung* des Pollens ergibt sich eine *Abnahme* der Fermentaktivität, die von GREEN bei *Liliaceen*-Pollen für Amylase mit $^2/_3$ der Anfangsaktivität angegeben wird. Bei den oben geschilderten Versuchen wurde dagegen bei *Digitalis*-Pollen ein Absinken der Amylaseaktivität um nahezu $^3/_4$ der Anfangsaktivität beobachtet. Dieser an sich ja nicht sehr große Unterschied zwischen GREENs und unseren eigenen Ergebnissen mag auf Artunterschieden beruhen und dürfte zudem stark von den Bedingungen abhängen, unter denen der Pollen aufbewahrt wurde.

Dabei ist besonders an die Einwirkung von UV-Licht, sowie Feuchtigkeits- und Temperaturschwankungen zu denken. Daß Pollen durch UV-Licht geschädigt werden, hat WERFFT (1951) gezeigt. Und daß dabei Fermentschädigungen eine Rolle spielen könnten, geht aus der Beobachtung von MCLAREN, SHEPPARD und WAGMANN (1948) hervor, wonach Urease durch UV-Licht zerstört wird. Die schädigende Wirkung der UV-Strahlen auf den Pollen könnte also sehr wohl über das Fermentsystem gehen. Ebenso mögen Schwankungen der Luftfeuchtigkeit, die für den Pollen einen ständigen Wechsel von Wasseraufnahme und -abgabe bedeuten, sich über den dadurch bedingten Wechsel der Lebensintensität (Atmung) indirekt auf das Fermentsystem auswirken. Und auch die Temperatureinflüsse dürften mit der Fermentaktivität verknüpft sein; denn BREDEMANN, GARBER, HARTECK und SUHR (1947) haben gezeigt, daß Pollen, der rasch auf — 190° unterkühlt und bei dieser Temperatur aufbewahrt wird, unbegrenzt lange keimfähig bleibt. Dies zeigt, daß der Pollen bei so tiefen Temperaturen der „Alterung" und der damit verbundenen Abnahme der Fermentaktivität entzogen ist.

Aus all diesen Befunden über die Einwirkungen von Außenfaktoren auf die Fermente des Pollens ist zu schließen, daß eine Mindestfermentaktivität, die neben anderen Bedingungen für die Pollenkeimfähigkeit erforderlich ist, allmählich im Laufe des Alterns unterschritten wird und daß dabei die Keimfähigkeit verlorengeht. Auch Änderungen in den Permeabilitätsverhältnissen dürften dabei mitspielen. Bei unseren Keimversuchen hat sich nämlich herausgestellt (vgl. Text zu Tabelle 19), daß man die Keimfähigkeit von Pollen verschiedenen Alters nicht mit gleichbleibender Methode prüfen kann. Offenbar verändert sich (im Sinne einer Verschlechterung) die Quellfähigkeit des Pollens während der Alterung (ILJIN, 1930). Wenn man nämlich die Keimmethode dem anpaßt, indem man alten Pollen sehr langsam quellen läßt, so ist Keimung noch möglich, wenn auch mit begrenztem Schlauchwachstum.

C. Außenfaktoren und Fermentaktivität bei frischen Pollen.

Eine Abhängigkeit der Fermentaktivität von Außenfaktoren wie bei alterndem Pollen zeigte sich auch bei Pollen, der aus *verschieden hoch stehenden Blüten* in Blütenständen bzw. im *Ablauf der Blütezeit* einer Pflanzenart oder von Pflanzen verschiedener Standorte gesammelt wurde. Insbesondere die Abnahme der Phosphataseaktivität war in allen diesen Fällen größenordnungsmäßig die gleiche. Auch sonst hat man an Pollen schon gewisse quantitative, chemische Differenzen beobachtet, die durch die Einwirkung unterschiedlicher Außenfaktoren bedingt sind. So haben NANDA und VHINOY (1945) die Erfahrung gemacht, daß die Sterilität von Weizenpollen von dem Licht-Dunkel-Rhythmus, in dem die Pflanzen herangezogen wurden, abhängig ist, und SCHOCH-BODMER (1946) gibt an, daß die Differenzen in der Blütenernährung in besonders hohem Maße temperaturabhängig sind. Sie fand weiter (1940), daß die Pollengröße von *Lythrum salicaria* durch die Ernährung und Wasserversorgung der Blüten beeinflußt wird und damit also durch die Stellung der Blüten an der Pflanze. Von der Pollengröße und der dadurch bedingten Menge an Inhaltsstoffen ist aber die Fertilität des Pollens und der Befruchtungserfolg abhängig. Hiermit stimmt überein, daß die Steigerungsfähigkeit der Fermentaktivität gekeimten Pollens mit zunehmendem Alter der Blüten gleichsinnig mit der Fermentaktivität des trockenen Pollens abnahm, so daß das Verhältnis zwischen beiden Werten konstant blieb, die Ferment*menge* sich demnach verringerte.

D. Aufgabe der Fermente.

Die spezifische Bedeutung der untersuchten Fermente für den Pollen läßt sich zunächst nur in großen Zügen skizzieren. Sicher scheint zu sein, daß die *Amylase* des Pollens sowohl die im Pollen vorhandene Stärke hydrolysiert, als auch aus Zuckerlösung des Keimmediums Stärke aufzubauen vermag (GREEN, 1894; BRANSCHEIDT, 1930; KÜHLWEIN, 1939). Außerdem übt die Amylase nach BRANSCHEIDT (1930) auch eine Reizwirkung auf das Pollenschlauchwachstum aus; denn sie fördert, dem Substrat zugesetzt, selbst dann das Wachstum, wenn im Pollen Stärke fehlt.

Die *Invertase* hat vermutlich 2 Aufgaben. Sie schafft durch Hydrolyse des Rohrzuckers die Monosaccharide, die im weiteren enzymatischen Abbau die zum Wachstum erforderliche Energie liefert. Weiter ist sie aber auch wohl an dem für die Zellstreckung erforderlichen Osmoregulationsmechanismus beteiligt. WANNER und LEUPOLD (1947) stellten nämlich an Wurzeln fest, daß in ihnen ein Maximum der Saccharasetätigkeit im Anfang der Zellstreckungszone liegt. Man kann wohl annehmen, daß auch bei der Streckung des Pollenschlauches die Invertase durch Mehrung osmotisch wirksamer Substanz die gleiche Rolle

spielt. Hierbei dürfte sie hauptsächlich das Verhältnis zwischen der Saugkraft des Pollenschlauches und der Dehnbarkeit der Pollenschlauchmembran zu regulieren haben (SCHOCH-BODMER, 1936).

Über die Bedeutung der *Phosphatase* für Pollen und Pollenschlauch läßt sich zweierlei sagen: Im Hinblick auf die Feststellung, daß Phosphatase bei der Kernteilung mitwirkt und sich dementsprechend in jungen, meristematischen Geweben gehäuft findet (COCKEFAIR, 1931), wäre es denkbar, daß die Phosphatase im Pollen bei den *Kernteilungsvorgängen* eine Rolle spielt. Die Möglichkeit einer solchen Funktion der Phosphatase wird auch durch die histochemischen Untersuchungen von RABINOWITCH (1949) bestätigt, der Phosphatase im Zytoplasma von Hefezellen, und zwar in dem „den Kern begleitenden Chromatin" lokalisiert fand. Indessen besteht sowohl zwischen dem *Streckungswachstum*, wie auch der Wachstumsgeschwindigkeit des Pollenschlauches und seiner Phosphataseaktivität kein direkter Zusammenhang. Dies haben unsere histochemischen und biochemischen Versuche gezeigt. In den histochemischen Präparaten waren die Spitzen der wachsenden Pollenschläuche stets frei von Phosphatase, ebenso die spitzenwärts hinter einem Kallosepfropfen gelegenen Teile von Pollenschläuchen. Berücksichtigt man dazu die Beobachtung BRINKS (1924 IV), daß die hinter einem Kallosepfropfen abgeschnittenen Pollenschlauchspitzen weiterwachsen, so ist damit gezeigt, daß die Phosphatase für das Streckungswachstum der Pollenschläuche keine Bedeutung hat.

Zusammenfassung.

1. Die Phosphatase-, Amylase- und Invertaseaktivität des Pollens verschiedener Pflanzen (Phosphatase bei 20, Amylase bei 12, Invertase bei 8 Arten) wurde unter optimalen Bedingungen für die Fermentreaktionen untersucht. Die Hauptuntersuchungen wurden an der Phosphatase durchgeführt.

2. Die Aktivität der Pollenphosphatase war im Verhältnis zu der anderer pflanzlicher Phosphatasen hoch und stimmte etwa mit der von Samen überein. Sie erwies sich als wesentlich niedriger als die von menschlicher Prostata, aber als größer als die der Nierenrinde (Rind).

3. Pollen von Arten der gleichen Gattung wiesen starke Differenzen in ihrer Pollenfermentaktivität auf. Auch innerhalb einer Art zeigte der Pollen beträchtliche Variationen der Fermentaktivität, wenn er von verschiedenen Standorten gesammelt worden war.

4. Bei der Pollenreifung fiel mit abnehmendem Feuchtigkeitsgehalt die Phosphataseaktivität ab.

5. Bei der Pollenkeimung stiegen die Fermentaktivitäten an, und zwar bei der Phosphatase um 8,5—100%, bei der Amylase um 15,2 bis 635% und bei der Invertase um 200—542%.

6. Bei Alterung des Pollens sank die Phosphataseaktivität im Laufe eines Jahres um 40%, die Amylaseaktivität um 87% ab.

7. Auch mit höherer Stellung der Blüten am Blütenstand nahm die Fermentaktivität des Pollens ab.

8. Die Phosphataseaktivität stand nicht in Korrelation zur Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche, noch war sie für das Streckungswachstum der Pollenschläuche maßgebend. Die Untersuchungen über die Lokalisation der Phosphatase haben gezeigt, daß wachsende Schlauchspitzen keine Phosphatase enthalten und daß auch keine Phosphatase aus den Pollenschläuchen austritt. Vielmehr war die Phosphatase unregelmäßig über den Pollenschlauch verteilt.

9. Zwischen der Länge der Griffel und der Höhe der Fermentaktivität wurde keine Beziehung gefunden.

10. Die Größe der Pollenfermentaktivität konnte aber in Zusammenhang mit dem Bau der Griffel gebracht werden. Pflanzen mit Griffelkanal hatten hohe Amylase- oder Invertaseaktivität; bei Pflanzen mit Griffelleitgewebe bestand dagegen hohe Phosphataseaktivität.

Herrn Prof. Dr. R. HARDER danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Unterstützung, die er mir während der Ausführung dieser Untersuchungen in seinem Institut zuteil werden ließ, herzlich.

Literatur.

ALBERS, H. E.: Z. physiol. Chem. **232**, 165 (1935). — AUDEN, ALLDEN and DAWSON: Biochemic. J. **25**, 1909 (1931). — BAMANN, E., u. K. MYRBÄCK: Methoden der Fermentforschung. 1941. — BEHRENS, W. J.: Untersuchungen über den anatomischen Bau des Griffels und der Narbe. Diss. Göttingen 1875. — BOBILIOFF-PREISSER, W.: Beih. bot. Cbl., 1. Abt., **34**, 459 (1917). — BRANSCHEIDT, P.: Planta (Berl.) **11**, 368 (1930). — Ber. dtsch. bot. Ges. **57** (1939). — BREDEMANN, G., K., GARBER, P. HARTECK u. K. A. SUHR: Naturwiss. **34**, 279 (1947). — BRINK, R. A.: Sammelreferat. Amer. J. Bot. **11**, 351 (1924). — BÜNNING, E.: Physiologie des Wachstums und der Bewegung. Berlin 1939. — CHRZASZCZ, T., u. J. JANICKI: Biochem. Z. **264**, 192 (1933). — COCKEFAIR, E. A.: Amer. J. Bot. **18** (1931). — EHRENBERG, M.: Beziehungen zwischen Fermenttätigkeit und Blattbewegung bei *Phaseolus multiflorus* unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen. Diss. Göttingen 1949. — ELSER, E., u. J. GANZMÖLLER: Z. physiol. Chem. **194**, 21 (1931). — ERLENMEYER, E.: Sitzgsber. Münch. Akad. Wiss. **4**, 204 (1874). — GIRI, K. V.: Z. physiol. Chem. **245**, 185 (1937). — GOMORI: Amer. J. clin. Path. **16**, 347 (1946). — GREEN, R.: Philos. Trans. roy. Soc. London B **185**, 385 (1894). — HAGEDORN, H. C., u. B. N. JENSEN: Biochem. Z. **135**, 46 (1923). — IGNATIEFF, V.: Biochemic. J. **30**, part. II (1936). — ILJIN, W. S.: Protoplasma **19**, 417 (1933). — KÜHLWEIN, H.: Beih. bot. Cbl., Abt. A, **57**, 37 (1937). — Bot. Archiv **39**, 245 (1939). — KUTSCHER, W., u. H. WOLBERGS: Z. physiol. Chem. **236**, 237 (1935). — LINDERSTRÖM-LANG, K.: Z. physiol. Chem. **201**, 9 (1931). — LOHMANN, K., u. L. JENDRASSIK: Biochem. Z. **178**, 419 (1926). — MCLAREN, A. D., E. SHEPPARD and J. WAGMAN: Nature (Lond.) **162**, 370 (1948). — MICHAELIS, L., u. D. DAVIDSOHN: Biochem. Z. **35**, 386 (1911). — MYRBÄCK, C. u. S.: Biochem. Z. **285**, 282 (1936). — NANDA and VHINOY: Current Sci. **14**, 9 (1945). — NELSON, J. M., and

M. P. Schubert: J. Amer. chem. Soc. **50**, 2188 (1928). — Nemec, A.: Biochem. Z. **202**, 229 (1928). — Neumann, K. H.: Im Druck. 1950. — Nilsson, R., u. F. Alm: Z. physiol. Chem. **239**, 179 (1936). — Oparin, A., S. Manskaja u. J. Glasunow: Biochem. Z. **272**, 317 (1934). — Oparin, A., u. S. Risskina: Biochem. Z. **252**, 8 (1932). — Paton, J. B.: Amer. J. Bot. **8**, 471 (1921). — Pfankuch, E.: Z. physiol. Chem. **241**, 37 (1936). — Rabinovitch, M.: Nature (Lond.) **164**, 878 (1949). — Rittinghaus, P.: Verh. naturhist. Ver. preuß. Rheinl. Westf. **43**, 105 (1886). — Schoch-Bodmer, H.: Zur Physiologie der Pollenkeimung bei *Corylus Avellana*. Pollen- und Narbensaugkräfte, Quellungserscheinungen der Kolloide des Pollens. Protoplasma (Berl.) **25**, 337 (1936). — Verh. schweiz. naturforsch. Ges. Freiburg **161** (1945a). — Ber. schweiz. bot. Ges. **55**, 154 (1945b). — Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **92**, 43 (1946). — J. Genet. **40**, 393 (1940). — Tieghem, P. van: Ann. Sci. nat. Bot. **12**, 312 (1869). — Todd, F. E., and O. Bretherick: J. Econ. Enton. **35**, 312 (1942). — Wanner, H., u. Leupold: Ber. schweiz. bot. Ges. **57** (1947). — Weise, W., u. Th. Brand: Biochem. Z. **264**, 357 (1933). — Werfft, R.: Biol. Zbl. **1951**. — Wohlgemuth, J.: Biochem. Z. **9** (1908). — Wolf, A., E. A. Cabat and W. Newman: Amer. J. Path. **19**, 423 (1943).

Dr. Agnes Haeckel, Göttingen, Nikolausberger Weg 18.

Planta, Bd. 39, S. 460—470 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen.

DER TAGESPERIODISCHE VERLAUF DER SUBSTANZPRODUKTION UND SPEZIELL DER ZELLULOSESYNTHESE IN BEZIEHUNG ZUR PHOTOPERIODISCHEN REAKTIONSWEISE.

Von

ERWIN BÜNNING.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. März 1951.)

Einleitung.

Zu den wichtigsten der vielen noch offenen Probleme über die Ursachen der photoperiodischen Reaktionen gehört die Frage, warum das Licht in der photo- und skotophilen Phase der endogenen Tagesrhythmik qualitativ verschiedenartig auf die Pflanze wirkt. Um diese Frage beantworten zu können, ist eine genauere Kenntnis der endogenen Tagesrhythmik notwendig. Das für den Photoperiodismus Wichtigste, was wir hierüber bisher wissen, ist wohl die unterschiedliche Wirkung bestimmter Fermente in den beiden Phasen dieser Rhythmik: das Überwiegen von Synthesen in der photophilen, von Hydrolysen in der skotophilen Phase (vgl. BÜNNING, EHRENBERG). Die bisherigen Untersuchungen erlauben es noch nicht, die Beziehung zwischen der Richtung der Fermenttätigkeit und der Art der photoperiodischen Sensibilität der Pflanzen genau festzulegen. Auch nach den Untersuchungen EHRENBERGs bleiben mehrere Fragen schon darum unbeantwortet, weil die zeitraubende Bestimmung der Fermentaktivität nur relativ wenige Messungen gestattete.

Um an einem größeren Material einen Einblick in den tagesperiodischen Verlauf der Fermentaktivität zu bekommen, mußte ein Verfahren angewandt werden, bei dem die Fermentaktivität nicht in vitro, sondern an den in der Pflanze ermöglichten Vorgängen gemessen wurde. Für solche Untersuchungen, die zugleich den Anfang für eine genauere stoffwechselphysiologische Analyse der endogenen Tagesrhythmik bilden sollen, wurde jetzt zunächst der Verlauf der Zellulosesynthese ermittelt.

Wenn in den Speicherorganen eine starke Reservestoffmobilisierung stattfindet, muß infolge des Transports löslicher Stoffe zu den wachsenden Teilen des Keims in diesen der Zelluloseanteil im Trockengewicht abnehmen, sofern die Zellulosesynthese nur langsam verläuft. Wenn aber die Zellulosesynthese im Keim stärker ist als die Bildung und Zufuhr löslicher Kohlenhydrate und anderer löslicher Verbindungen, so

muß der Zelluloseanteil zunehmen. Aus dem prozentualen Zellulosegehalt mußte sich also auf ein relatives Überwiegen von Synthese bzw. Hydrolyse schließen lassen. Darüber hinaus ergab sich bei den Versuchen unter bestimmten Bedingungen auch die Möglichkeit, die absolute Zunahme der Zellulosemenge in ihrem tagesperiodischen Verlauf zu bestimmen. Endlich bot noch die Untersuchung des tagesperiodischen Verlaufs der Gesamttrockengewichtzunahme im Keim einen gewissen Anhaltspunkt für die Beurteilung des Verlaufs der Synthesevorgänge (Zellulose- und Protoplasmaaufbau) im Keim.

1. Methodisches.

Als Versuchsmaterial dienten mehrere Sojasorten, und zwar die Varietäten Otootan, Tokyo und Biloxi, die extreme Kurztagtypen sind, sowie eine weitere seit mehreren Jahren hier in Tübingen kultivierte Sojasorte, die als Soja-Tübingen bezeichnet sei, und die tagneutraler ist, obwohl sie auch noch zu den Kurztagpflanzen gehört.

Als typische Langtagpflanzen wurden zunächst Spinat und Salat gewählt. Jedoch zeigte sich, daß die Synthese- und Wachstumsvorgänge hier zu langsam verlaufen, um eine erfolgreiche Anwendung unserer Methode zu ermöglichen. Wir können das angedeutete Verfahren nur bei Pflanzen anwenden, denen reichliche Reservestoffmengen zur Verfügung stehen. So konnten den Sojaversuchen nur solche mit *Pisum sativum* („Zuckererbsen, frühe Heinrich") zur Seite gestellt werden. Diese Erbsen erwiesen sich bei der photoperiodischen Prüfung eindeutig als Langtagpflanzen. Sowohl im Gewächshaus als auch bei einer Kultur in künstlichem Licht kamen sie innerhalb von 6—8 Wochen nie zum Blühen, wenn die Tageslänge 10—12 Std betrug, obwohl in dieser Zeit mehr als 14 Internodien gebildet worden waren. Im längeren Tag (etwa vom 13.—14. Tag ab) bildete die Sorte Blüten, wenn 8—9 Internodien entstanden waren.

Die Samen von *Soja* und *Pisum* wurden 12 Std im Wasser gequollen, dann 24 Std in großen Schalen auf feuchtes Filtrierpapier gelegt und weiterhin entweder auf dem Filtrierpapier zur Keimung belassen oder in Erde übertragen.

Die Pflanzen befanden sich vom Beginn der Keimung ab in einem Konstanzraum. Die Temperatur betrug 23°. Schwankungen der Temperatur waren mit dem Thermographen entweder überhaupt nicht festzustellen, oder höchstens gerade eben erkennbar, blieben also durchweg unter etwa $^1/_4$ Grad. Die Pflanzen erhielten täglich 12 Std Licht von 5 Osram-Leuchtröhren (HNT 120, 25 Watt). Von diesen Röhren befanden sich 5 in einer horizontalen Ebene, die etwa 60 cm über den Schalen mit den Pflanzen lag. In dieser Leuchtebene hatten die Röhren einen gegenseitigen Abstand von 15 cm. Die Luftfeuchtigkeit in dem Raum schwankte zwischen etwa 50 und 55%. Diese Schwankungen hatten aber keinen tagesperiodischen Verlauf; oft blieb die Luftfeuchtigkeit auch mehrere Tage hindurch so konstant, daß auf dem Hygrographen kaum Schwankungen erkennbar waren. Für die Versuchspflanzen selber war die Luftfeuchtigkeit noch höher und

zweifellos noch konstanter, da die Schalen mit den Pflanzen regelmäßig von Glasplatten bedeckt waren.

Hatten die Pflanzen das gewünschte Alter von einigen Tagen erreicht, so wurden an einem bestimmten Tage, aber während dieses Tages zu verschiedenen Zeiten, Proben entnommen. Die Pflanzen standen während der ganzen Zeit der Probenentnahme unter gleichbleibenden Bedingungen. Auch das Licht blieb an diesem Tage bis zur Entnahme der letzten Probe eingeschaltet.

In den Proben wurde die Trockensubstanz bestimmt, und dann nach dem Verfahren von KÜRSCHNER und HOFFER (vgl. PRINGSHEIM und KRÜGER im Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. 3, Teil 2, S. 11, Wien 1932) mit alkoholischer Salpetersäure im Warmbad gekocht, um alle Stoffe mit Ausnahme der Zellulose herauszulösen.

2. Die tagesperiodischen Schwankungen im Zelluloseanteil bei Soja.

Die Versuche mit Soja-Tübingen sind in Abb. 1 zusammengestellt. Es handelt sich um folgende Einzelversuche:

Versuch 1: 5 Tage alte Pflanzen, die auf Filtrierpapier gekeimt und gewachsen waren. Die in Abb. 1 eingetragenen Werte beziehen sich auf den subkotyledonaren Teil der Keimlinge, d. h., die Kotyledonen und die noch sehr kleinen, von den Kotyledonen eingeschlossenen Epikotyle mit den Primärblättern wurden entfernt. Jede Probe bestand aus 30 Pflanzen.

Versuch 2: Ebenso wie Versuch 1, aber 4 Tage alte Pflanzen.

Versuch 3: Ebenso wie Versuch 1 und 2, aber 5 Tage alte Pflanzen.

Versuch 4: Ebenso wie die vorherigen Versuche, aber 3 Tage alte Pflanzen und zu jeder Probe 55 Pflanzen.

Versuch 5: 8 Tage alte Pflanzen, die auf Erde gewachsen waren. Hier dienten zur Analyse nur die von den Kotyledonen und Wurzeln befreiten Teile. Es handelte sich also im wesentlichen um Hypokotyl, Epikotyl und Primärblätter. Für jede Probe dienten 10 Pflanzen.

Aus Abb. 1 ergibt sich, daß immer spätestens 12 Std nach Lichtbeginn ein Abfall des prozentualen Zellulosegehalts eintritt. Bis zur 7. Std nach Lichtbeginn hingegen erfolgt (mit 1 Ausnahme) ein Anstieg des prozentualen Zellulosegehalts.

Wir dürfen hieraus also schließen, daß in den ersten 7 Std nach Lichtbeginn die Synthesen (mindestens die Synthese von Zellulose) überwiegt, in den anschließenden 5 Std keine so großen Unterschiede zwischen Synthese und Neuzufuhr von Stoffen aus den Kotyledonen bestehen, später aber diese Neuzufuhr von Produkten der Hydrolyse überwiegt.

Mit den Sorten Soja-Otootan und Soja-Tokyo konnte wegen Mangel an Material nur je 1 Versuch ausgeführt werden. Die Ergebnisse dieser beiden Versuche sind in Abb. 2 dargestellt.

Soja-Otootan: Zur Analyse dienten nur die von den Wurzeln und Kotyledonen befreiten Teile der Keimpflanzen. Die Pflanzen waren 8 Tage alt und auf Erde gewachsen. Jede Probe bestand aus 20 Pflanzen. Soja-Tokyo: Zur Analyse dienten 4 Tage alte Pflanzen, die auf dem Filtrierpapier gewachsen waren. Die Kotyledonen mit den von ihnen eingeschlossenen Epikotylen und Primärblättern wurden nicht mitanalysiert. Jede Probe bestand aus 30 Pflanzen.

Wir finden, wie Abb. 2 zeigt, bei diesen beiden Sorten im wesentlichen einen ähnlichen Verlauf wie bei Soja-Tübingen, jedoch wird der maximale Zellulosegehalt anscheinend schon etwas früher erreicht.

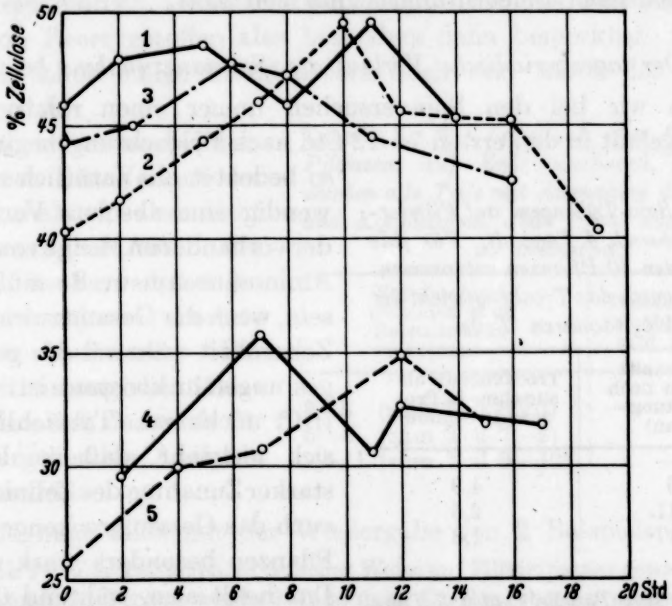


Abb. 1. Soja-Tübingen. Prozentualer Anteil der Zellulose am Trockengewicht der Keimlinge bei 5 verschiedenen Versuchsreihen und zu verschiedenen Zeiten nach Beginn der täglichen Lichtperiode. Am Versuchstage selber wurde bis zur letzten Probeentnahme Licht geboten. Abszisse: Stunde nach Beginn der Lichtperiode. Ordinate: Zellulosegehalt.

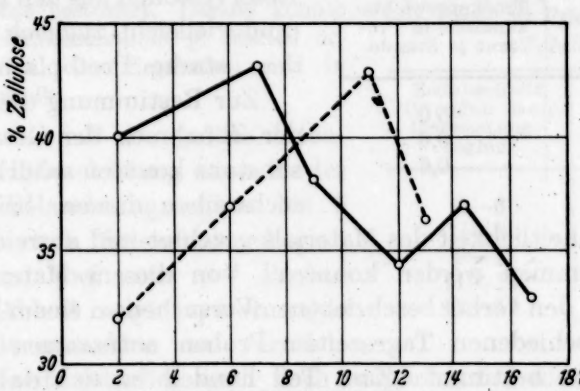


Abb. 2. Wie Abb. 1, aber für Soja-Otootan (ausgezogene Kurve) und Soja-Tokyo (gestrichelte Kurve).

Mit Biloxi-Soja wurde nur 1 Versuch ausgeführt, weil das zur Verfügung stehende Samenmaterial sehr schlecht keimte. Und auch die Keimlinge zeigten starke Schädigungen, Deformationen der einzelnen Teile und häufiges Absterben. So blieb nur ein kleiner Prozentsatz der Pflanzen zur Entnahme der Proben übrig. Daher kann auf diesen Versuch kein großer Wert gelegt werden, er fügt sich aber in das schon

gewonnene Bild ein: 4 Tage alte Keimpflanzen (nur Hypokotyle von Wurzeln wurden analysiert) zeigten bis zur 7. Std nach Beleuchtungsbeginn einen Zelluloseanteil von 37%, in der 12. Std von 43% und in der 17. Std nach Beleuchtungsbeginn von 39%.

3. Der tagesperiodische Verlauf der Substanzzunahme bei Soja.

Wenn wir bei den Sojaversuchen immer einen relativ höheren Zellulosegehalt in den ersten 7—12 Std nach Beleuchtungsbeginn finden, so bedeutet das natürlich nicht notwendig eine absolute Verringerung der vorhandenen Menge von Zuckern, Aminosäuren usw. So müßte es nur sein, wenn der Gesamtzuwachs in der Zeiteinheit während des ganzen Tages ungefähr konstant ist. Das aber trifft nicht zu. Tatsächlich zeigte sich vielmehr, daß in der Phase starker Zunahme des Zelluloseanteils auch das Gesamttrockengewicht der Pflanzen besonders stark zunimmt. Das heißt also, während der Zellulosesynthese erfolgt auch eine besonders starke Nachströmung von Reservestoffen aus den Kotyledonen (und vielleicht zugleich eine besonders starke Protoplasmasynthese).

Tabelle 1. *Soja-Tübingen, auf Filtrierpapier wachsend, 4 Tage alt. Für jede Probe wurden 30 Pflanzen entnommen. Bestimmt wurde das Trockengewicht der subkotyledonaren Teile.*

Zeitabschnitt (Stunden nach Beleuchtungsbeginn)	Trockengewichtszunahme in Prozent je Stunde
1—6	4,9
6—11	2,5
11—17	1,3

Tabelle 2. *Wie Tabelle 1, aber 3 Tage alte Keimlinge. Für jede Probe wurden 55 Pflanzen entnommen.*

Zeitabschnitt (Stunden nach Beleuchtungsbeginn)	Trockengewichtszunahme in Prozent je Stunde
0—4	5,0
4—8	0,6
8—12	0,6

Zur Bestimmung dieses Verlaufs der Zunahmen der Gesamttrockensubstanz konnten natürlich nur Versuchsreihen dienen, bei denen auf besondere Einheitlichkeit des Materials geachtet und ausreichend große Proben entnommen werden konnten. Von diesem Material wurden ebenso wie bei den vorher beschriebenen Versuchen an einem bestimmten Tage zu verschiedenen Tageszeiten Proben entnommen und deren Trockengewicht bestimmt. Zum Teil handelt es sich dabei um das gleiche Material, das auch für die vorher erwähnten Analysen weiter verarbeitet wurde. Die Ergebnisse seien in einigen Tabellen zusammengefaßt (vgl. Tabellen 1—4).

Durchweg findet also eine starke Zunahme des Trockengewichts in dem Zeitabschnitt statt, in dem auch der Zelluloseanteil stark zunimmt. Der starke Verbrauch von Baustoffen bedingt also offenbar eine verstärkte Zufuhr von Zucker usw., die aber mit der Synthese eben nicht ganz Schritt hält, so daß der prozentuale Anteil an Zellulose doch

noch zunimmt. Daß gelegentlich eine Verminderung der vorhandenen Menge Trockensubstanz eintritt, ist für eine Keimpflanze nicht erstaunlich. Es scheint, daß dieses bevorzugt am Ende der Phase starker Zellulosesynthese eintritt. Offensichtlich macht sich das Nachhinken der Zufuhr von Reservestoffen also besonders dann bemerkbar, wenn der Verbrauch schon einige Stunden sehr hoch war. Auch das ist nicht verwunderlich.

Endlich ist es noch interessant, auch den Verlauf der Zellulosezunahme, also nicht den prozentualen Anteil der Zellulose, sondern deren jeweils vorhandene absolute Menge zu bestimmen. Für diese Bestimmung diente das gleiche Material, das auch für die vorhergehenden Analysen benutzt wurde.

Tabelle 3. *Wie Tabelle 1, aber 8 Tage alte Pflanzen, auf Erde wachsend. Analysiert wurden alle Teile mit Ausnahme der Wurzeln und Kotyledonen. Jede Probe aus 24 Pflanzen bestehend.*

Zeitabschnitt (Stunden nach Beleuchtungsbeginn)	Trockengewichtszunahme in Prozent je Stunde
2—5 (zum Teil bis 7)	4,2
5—8 (zum Teil 7—9)	1,3
8—11 (zum Teil 9—12)	—0,1

Ich begnüge mich mit der Wiedergabe von 2 Beispielen:

Versuch 1: Soja-Tübingen, in üblicher Weise auf Filtrierpapier gewachsen. Mit der Entnahme der Proben wurde 3 Tage nach Quellungsbeginn angefangen. Die Probenentnahme wurde $1^1/_2$ Tage hindurch fortgesetzt. Jede Probe umfaßte 30 Pflanzen. In den Proben wurde die vorhandene Menge Zellulose bestimmt. Daraus konnte dann die Zellulosezunahme je Stunde errechnet werden. Die Ergebnisse sind in Abb. 3 dargestellt.

Tabelle 4. *Soja-Tokyo, 4 Tage alt, auf Filtrierpapier wachsend. Für jede Probe 30 Pflanzen. Sonst wie Tabelle 1.*

Zeitabschnitt (Stunden nach Beleuchtungsbeginn)	Trockengewichtszunahme in Prozent je Stunde
2—6	3,1
6—9	4,2
9—11	3,0
11—13	—3,0
13—17	0

Wir sehen, daß die größte Intensität der Zellulosebildung etwa in der Zeit vom Beleuchtungsbeginn bis 6 oder 7 Std nach Beleuchtungsbeginn erreicht wird (bei einer der Proben war, wie Abb. 3 zeigt, später sogar eine Zelluloseabnahme zu verzeichnen; es bleibt natürlich auch noch möglich, daß diese Probe schon zu Versuchsbeginn zufällig ein etwas kleineres Gewicht aufwies als die übrigen).

Versuch 2. Wie Versuch 1, aber zu jeder Probe wurden 55 Pflanzen entnommen, und die Entnahme wurde nur 15 Std durchgeführt. Die Ergebnisse sind auch in Abb. 3 enthalten; sie entsprechen denen des vorhergehenden Versuchs.

Diese Versuche über die Zunahme der Gesamtzellulosemenge bestätigen also die Schlußfolgerungen, die wir aus den Bestimmungen des prozentualen Zelluloseanteils gezogen haben.

4. Die tagesperiodischen Schwankungen im Zelluloseanteil bei Pisum sativum.

Zu den Erbsenversuchen wurden Pflanzen im Alter von 3 Tagen bis zu etwa 1 Woche benutzt. Die Proben wurden ohne Kotyledonen untersucht. Während bei Soja der prozentuale Anteil von Zellulose in

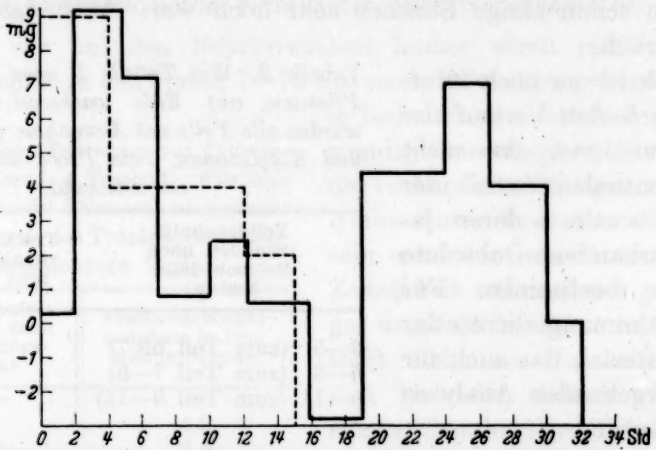


Abb. 3. Soja-Tübingen. Absolute Zellulosezunahme je Stunde. Abszisse: Stunde nach Beginn der Lichtperiode. Auch hier wurde die Lichtperiode während der ganzen Zeit der Entnahme von Proben nicht mehr unterbrochen. Ordinate: Zellulosezunahme in Milligramm. (Von den beiden Versuchen ist einer durch die ausgezogenen der andere durch die gestrichelten Linien dargestellt.)

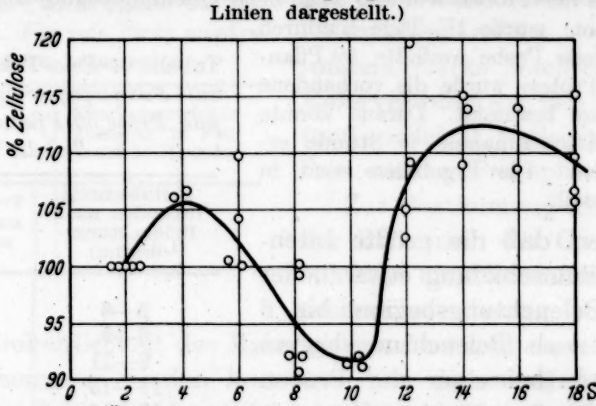


Abb. 4. *Pisum sativum.* Ähnlich wie Abb. 1, jedoch sind nicht die tatsächlichen Prozentsätze Zellulose angegeben, sondern mehrere Versuchsreihen wurden zusammengefaßt und der etwa 2 Std nach Beleuchtungsbeginn bestimmte Zellulosegehalt als 100 bezeichnet.

Keimlingen verschiedenen Alters recht unterschiedlich war (vgl. Abb. 1) änderte er sich bei Erbsen verhältnismäßig wenig. Daher war es möglich, alle Versuche zusammenzufassen und eine mittlere Kurve zu konstruieren (Abb. 4). Die Kurve wurde so gewonnen, daß bei jedem Einzelversuch der erste, 2 Std nach Beleuchtungsbeginn bestimmte Wert des prozentualen Zellulosegehalts als 100 bezeichnet wurde und die späteren Werte dann in Prozenten dieses ersten ausgedrückt wurden. Dem ersten Wert, also 100, entsprach wie nebenher erwähnt sei, ein prozentualer

Zellulosegehalt der Keimlinge von 25—27, solange die Keimlinge 3 bis 5 Tage alt waren; er stieg allmählich auf 30—35, wenn sie 8 Tage alt wurden.

Das Ergebnis (Abb. 4) entsprach nicht ganz meiner ursprünglichen Vermutung. Zwar wird hier, wie erwartet, das Maximum des Zellulose*gehalts* erst sehr spät nach Beginn der täglichen Lichtperiode erreicht (etwa 14 Std nach Beleuchtungsbeginn); aber sehr deutlich ist doch auch ein Maximum etwa 4 Std nach Beleuchtungsbeginn zu erkennen. Dazwischen liegt ein sehr ausgeprägtes Minimum, etwa 10 Std nach Lichtbeginn. Wir dürfen also schließen, daß die stärkste *Synthese* von Zellulose etwa 12—14 Std nach Lichtbeginn abläuft, und ein anderes, früheres, Maximum schon etwa 2—4 Std nach Beleuchtungsbeginn besteht.

Tabelle 5. *Pisum sativum auf Filtrierpapier wachsend, 4 Tage alt. Für jede Probe wurden 120 Pflanzen entnommen. Bestimmt wurde das Trockengewicht der Epikotyle und der daran befindlichen jungen Blätter.*

Zeitabschnitt (Stunden nach Beleuchtungsbeginn)	Trockengewichtszunahme in Prozent je Stunde
0 —5½	2,2
5½—9	2,3
9 —12	1,0
12 —15	2,9
15 —17	0,5

5. *Der tagesperiodische Verlauf der Substanzzunahme bei Pisum sativum.*

Aus den gleichen Gründen, die wir bei den Sojaversuchen nannten, mußte auch hier noch der Verlauf der Gesamtsubstanzproduktion ermittelt werden. Auch hier gaben die Resultate nicht ein so einfaches Bild wie bei den Sojaversuchen (vgl. Tabelle 5).

Tabelle 6. *Pisum sativum. Nähere Erläuterung im Text.*

Zeitabschnitt (Stunden nach Beleuchtungsbeginn)	Trockengewichtszunahme in Prozent je Stunde
2—7	3,9
7—11	0,1
11—17	3,6

Drei weitere Versuche, die ebenso ausgeführt wurden wie der oben genannte, brachten ganz ähnliche Ergebnisse. Um die Fehlerquellen soweit wie irgend möglich zu reduzieren, wurde noch folgender Versuch angesetzt, bei dem die Erbsen am 2. Tag nach Versuchsbeginn sorgfältig sortiert wurden, so daß beim Versuch möglichst einheitliches Material vorlag. Bei dieser Sortierung wurden nur Erbsen ausgewählt, an denen die Keimung gleich weit vorangeschritten war, die Keimwurzeln hatten auf $\pm$ 1 mm die gleiche Länge von 15 mm. Am 4. Tag nach Quellungsbeginn wurden aus diesem sehr gleichmäßigen Material die Proben entnommen. Jede Probe umfaßte 40 Pflanzen und bestand wieder nur aus den Epikotylen mit den daran befindlichen Blättern. Tabelle 6 bringt die Ergebnisse.

Wir finden also sowohl nach Tabelle 5 als auch nach Tabelle 6 eine starke Substanzzunahme in den ersten Stunden nach Beleuchtungs-

beginn, dann eine Phase geringer oder fehlender Substanzzunahme und schließlich nochmals eine Periode mit verstärktem Wachstum. Das entspricht vollkommen dem, was nach den Schwankungen im Zelluloseanteil der Trockensubstanz erwartet wurde.

6. Die Beziehungen zwischen den tagesperiodischen Schwankungen der Syntheseintensität und denen der photoperiodischen Sensibilität.

Bei Soja haben wir ein eindeutiges Überwiegen der Syntheseleistung in den ersten Stunden nach Beginn der täglichen Lichtperiode feststellen können. Genauer ließ sich der Zeitpunkt der intensivsten Synthese mit unserer Methode nicht ermitteln. Jedoch dürfen wir sagen, daß sich die Phase intensivster Synthese zeitlich ungefähr mit dem Beginn der photophilen Phase deckt. Einige der Versuche zeigen das Synthesemaximum allerdings auch erst etwa in der Mitte der photophilen Phase. Die photophile Phase beginnt ja bei Soja ungefähr zur Zeit des Beleuchtungsbeginns, erreicht ihr Maximum etwa 5 Std, ihr Ende etwa 10 Std nach Beleuchtungsbeginn.

Diese Angaben gelten für Biloxi-Soja (BÜNNING 1950); bei anderen Arten, wie etwa unserer Toja-Tübingen, wird das Ende der photophilen Phase, und wohl auch deren Maximum einige Stunden später erreicht.

Die abbauenden Fermentleistungen zeigen ihr Maximum etwa am Ende der photophilen Phase, d. h., unmittelbar vor Beginn (oder bei Beginn?) der skotophilen Phase (EHRENBERG, BÜNNING 1950). Wir gelangen also zu der Schlußfolgerung, daß während der photophilen Phase die hier zunächst hohe synthetische Leistungsfähigkeit allmählich abnimmt, die hydrolytische zunimmt. Die photophile Phase beginnt mit starker synthetischer, die skotophile mit starker hydrolytischer Leistungsfähigkeit der Fermente.

Nach diesen Ergebnissen der Soja-Versuche hatte ich erwartet, bei den Erbsen ein Maximum der Synthese erst etwa 12 Std nach Beginn der täglichen Beleuchtungsperiode zu finden, da die photophile Phase bei Langtagpflanzen ungefähr 12 Std nach Lichtbeginn einzutreten pflegt. Tatsächlich finden wir zu dieser Zeit auch eine starke Synthese, und zwar — nach dem Zelluloseanteil und Trockengewicht zu urteilen — die lebhafteste tägliche Syntheseperiode. Aber außerdem findet auch eine starke Synthese schon einige Stunden nach Beleuchtungsbeginn statt, die von dem erstgenannten (späteren) Maximum deutlich durch ein Minimum getrennt ist.

Dieses überraschende Resultat veranlaßte mich nun zu prüfen, ob bei den Langtagpflanzen wirklich die ganze erste etwa 10—12 Std lange Periode nach Beleuchtungsbeginn skotophil ist, oder ob nicht vielmehr der erste Teilabschnitt dieser 10—12 Std auch photophil ist. Die bekannte Tageslängenabhängigkeit der Blütenbildung bei Langtagpflanzen

könnte auch dann resultieren, wenn wir nämlich annehmen, daß der in der ersten photophilen Phase gebotene Impuls quantitativ nicht zur Induktion der Bildung von Blütenprimordien ausreicht. Falls diese Auffassung den Tatsachen entspricht, sollte man aber erwarten, daß wenigstens bei einigen Langtagpflanzen das in der ersten (d. h. früheren) photophilen Phase gebotene Licht schon eine Blütenbildung ermöglicht. Das trifft tatsächlich zu, d. h. es gibt Langtagpflanzen, die bei sehr kurzer Tageslänge blühen, bei mittlerer aber wieder später oder gar nicht blühen, und dann erst bei großen Tageslängen wieder blühen bzw. schneller blühen (vgl. Lewis und Went, Bünning 1951). Auch mehrere *Pisum*sorten, deren photoperiodisches Verhalten ich untersuchte, fügen sich diesem Schema ein. Doch soll hierüber erst in einem größeren Zusammenhang nach der Prüfung weiterer Langtagpflanzen berichtet werden. Es ist durchaus möglich, daß alle Langtagpflanzen diese doppelte photophile Phase zeigen.

Im übrigen paßt die Tatsache, daß bei Langtagpflanzen 2 Maxima der synthetischen Leistungen, und auch 2 photophile Phasen bestehen können, sehr gut zu dem schon bekannten doppelten Photosynthesemaximum der Langtagpflanzen. Bei Langtagpflanzen finden wir sehr häufig sowohl in den ersten Stunden nach Beleuchtungsbeginn als auch erheblich später ein Maximum der Photosynthese. Das heißt unter normalen Bedingungen zeigen Langtagpflanzen meist einerseits frühmorgens und andererseits am Nachmittag oder Abend eine hohe Photosynthese (vgl. die Hinweise bei Bünning 1944). Daß in den Zeiten hoher synthetischer Leistungsfähigkeiten sowohl der Aufbau von Zellulose aus Zucker als auch gleichzeitig die Photosynthese erleichtert sind, ist begreiflich.

Bemerkenswert ist vielleicht noch die Tatsache, daß — soweit die hier mitgeteilten Versuche eine Entscheidung zulassen — das Maximum der Syntheseaktivität offenbar nicht zur Zeit der stärksten photophilen Eigenschaften, und das Maximum der Hydrolyseaktivität nicht zur Zeit der stärksten skotophilen Eigenschaften erreicht wird, sondern jene Fermentaktivitätsmaxima immer zu Beginn dieser beiden unterschiedlich lichtempfindlichen Phasen ihren Höhepunkt erreichen. Wenn sich das weiterhin bestätigt, so liegt darin vielleicht ein Ansatzpunkt zur Aufklärung des Mechanismus für den autonomen Wechsel von photophiler und skotophiler Phase.

An diesem Punkt müssen weitere stoffwechselphysiologische Untersuchungen ansetzen, mit denen schon begonnen wurde.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Bei den untersuchten Sojasorten (mehr oder weniger ausgeprägten Kurztagpflanzen) zeigt die Zellulosesynthese ein Maximum in den ersten

7 Std nach Beginn der täglichen Lichtperiode. Im gleichen Zeitabschnitt ist auch die Trockengewichtzunahme am größten.

Bei einer Erbsensorte (Langtagpflanze) zeigten sich 2 Maxima dieser Syntheseleistungen: Eines in den ersten Stunden nach Beleuchtungsbeginn, das zweite etwa 10—12 Std später.

Bei *Soja* deckt sich das Synthesemaximum zeitlich etwa mit dem Beginn der photophilen Phase. Bei *Pisum* deckt sich das zweite Synthesemaximum zeitlich ungefähr mit diesem Beginn der photophilen Phase. Aus der Existenz des weiteren, früher eintretenden Synthesemaximums bei der Langtagpflanze wird die Vermutung abgeleitet, daß auch hier außer der bekannten späten auch noch eine (bisher übersehene frühe photophile Phase besteht. Diese Vermutung findet ihre Bestätigung im photoperiodischen Verhalten.

Vergleicht man die Ergebnisse mit den früheren Resultaten über den tagesperiodischen Gang der hydrolytischen Leistungsfähigkeit, so ergibt sich eine gute Harmonie auf der Grundlage der seinerzeit gegebenen Darlegungen, nach denen einer hohen hydrolytischen Leistungsfähigkeit eine geringe synthetische entspricht und umgekehrt: Zu Beginn der photophilen Phase besteht hohe synthetische, niedrige hydrolytische Aktivität. Am Ende der photophilen Phase, d. h. beim Beginn der skotophilen, besteht hohe hydrolytische, geringe synthetische Aktivität.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danke ich für die Unterstützung der Untersuchung, Frl. Ingrid Böhmer für die Hilfe bei der Durchführung der Analysen.

Literatur.

Bünning, E.: Flora (Jena) **38**, 93 (1944), — Planta (Berl.) **38**, 521 (1950). — Ber. dtsch. bot. Ges. **64**, 84 (1951). — Ehrenberg, M.: Planta (Berl.) **38**, 244 (1950). — Lewis, H., and F. W. Went: Amer. J. Bot. **32**, 1 (1945).

Prof. Dr. E. Bünning, Tübingen, Botanisches Institut.

Planta, Bd. 39, S. 471—475 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz.

ÜBER DIE LUFTWURZELN VON OLEANDRA.

Von

CARL WETTER.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. März 1951.)

Die Wurzeln der rezenten Pflanzen sind als Organe sui generis aufzufassen, die in ihrer Struktur so eindeutig ausgeprägt sind, daß man nur in seltenen Fällen darüber im Zweifel war, ob es sich um echte Wurzeln oder um ähnliche, nur analoge Organe handelt. Unter den leptosporangiaten Farnen machte allein die Gattung *Oleandra*, nach BOWER (1928, S. 23) ein „genus incertae sedis", eine Ausnahme; denn die Luftwurzeln, durch die sich die epiphytischen Arten der Gattung auszeichnen, wurden für echte Wurzelträger gehalten.

Erstmalig hat POIRAULT (1893, S. 116) auf die fraglichen Bildungen hingewiesen. Er spricht zwar von Wurzeln, setzt aber hinzu, daß sie „présentent beaucoup d'analogie avec ce qu'on a appelé porte-racines chez les Sélaginelles". Als Beispiel führt er *O. Wallichii*, *O. nodosa* und *O. Cumingii* an. Seinen Angaben fehlt jedoch jede anatomische Begründung. Dieselbe Ansicht vertritt in neuerer Zeit OGURA (1938, S. 193), der für die Wurzelträgernatur an Hand von *O. Wallichii* anatomische Beweise zu bringen versucht, die jedoch nicht zu überzeugen vermögen. Außerdem erwähnt dieser Autor dieselbe Organbildung für *O. neriiformis*, *O. pistillaris*, *O. benguetensis*, *O. Whitmei* und *O. Cumingii*. Die angeblichen Wurzelträger werden dabei definiert als Bildungen, die zwischen Sproßachse und Wurzel eine Mittelstellung einnehmen. In Wirklichkeit handelt es sich bei den Wurzelträgern von *Selaginella* aber um modifizierte Sprosse (vgl. TROLL 1937, S. 293 und 1949, S. 52). TROLL (1941—1943, S. 2230 und 1944, S. 31) unterzog die Darstellung OGURAS einer kritischen Betrachtung und kam zu folgendem Schluß: „Alles in allem kann gesagt werden, daß die vermeintlichen Wurzelträger mit Sprossen kaum etwas gemein haben. Vielmehr haben wir es mit veränderten Wurzeln zu tun, modifiziert dadurch, daß die typischen Wurzelcharaktere der jeweiligen Hauptwurzel teilweise fehlen und sich voll erst an deren Verzweigungen einstellen." Daß TROLL mit dieser Ansicht recht hat, bestätigen meine im folgenden dargelegten anatomischen Studien.

Ich benutzte zu meinen Untersuchungen *O. articulata* CAV., die OGURA zwar nicht untersucht hat, die aber *O. Wallichii* morphologisch und anatomisch sehr nahe steht. Außerdem gibt OGURA die sog. Wurzelträger als charakteristisch für die ganze Gattung *Oleandra* an, so daß es sich zweifellos in beiden Fällen um die gleichen Organe handelt.

7 Std nach Beginn der täglichen Lichtperiode. Im gleichen Zeitabschnitt ist auch die Trockengewichtzunahme am größten.

Bei einer Erbsensorte (Langtagpflanze) zeigten sich 2 Maxima dieser Syntheseleistungen: Eines in den ersten Stunden nach Beleuchtungsbeginn, das zweite etwa 10—12 Std später.

Bei *Soja* deckt sich das Synthesemaximum zeitlich etwa mit dem Beginn der photophilen Phase. Bei *Pisum* deckt sich das zweite Synthesemaximum zeitlich ungefähr mit diesem Beginn der photophilen Phase. Aus der Existenz des weiteren, früher eintretenden Synthesemaximums bei der Langtagpflanze wird die Vermutung abgeleitet, daß auch hier außer der bekannten späten auch noch eine (bisher übersehene frühe photophile Phase besteht. Diese Vermutung findet ihre Bestätigung im photoperiodischen Verhalten.

Vergleicht man die Ergebnisse mit den früheren Resultaten über den tagesperiodischen Gang der hydrolytischen Leistungsfähigkeit, so ergibt sich eine gute Harmonie auf der Grundlage der seinerzeit gegebenen Darlegungen, nach denen einer hohen hydrolytischen Leistungsfähigkeit eine geringe synthetische entspricht und umgekehrt: Zu Beginn der photophilen Phase besteht hohe synthetische, niedrige hydrolytische Aktivität. Am Ende der photophilen Phase, d. h. beim Beginn der skotophilen, besteht hohe hydrolytische, geringe synthetische Aktivität.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danke ich für die Unterstützung der Untersuchung, Frl. Ingrid Böhmer für die Hilfe bei der Durchführung der Analysen.

Literatur.

Bünning, E.: Flora (Jena) **38**, 93 (1944), — Planta (Berl.) **38**, 521 (1950). — Ber. dtsch. bot. Ges. **64**, 84 (1951). — Ehrenberg, M.: Planta (Berl.) **38**, 244 (1950). — Lewis, H., and F. W. Went: Amer. J. Bot. **32**, 1 (1945).

Prof. Dr. E. Bünning, Tübingen, Botanisches Institut.

Planta, Bd. 39, S. 471—475 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz.

ÜBER DIE LUFTWURZELN VON OLEANDRA.

Von

CARL WETTER.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. März 1951.)

Die Wurzeln der rezenten Pflanzen sind als Organe sui generis aufzufassen, die in ihrer Struktur so eindeutig ausgeprägt sind, daß man nur in seltenen Fällen darüber im Zweifel war, ob es sich um echte Wurzeln oder um ähnliche, nur analoge Organe handelt. Unter den leptosporangiaten Farnen machte allein die Gattung *Oleandra*, nach BOWER (1928, S. 23) ein „genus incertae sedis", eine Ausnahme; denn die Luftwurzeln, durch die sich die epiphytischen Arten der Gattung auszeichnen, wurden für echte Wurzelträger gehalten.

Erstmalig hat POIRAULT (1893, S. 116) auf die fraglichen Bildungen hingewiesen. Er spricht zwar von Wurzeln, setzt aber hinzu, daß sie „présentent beaucoup d'analogie avec ce qu'on a appelé porte-racines chez les Sélaginelles". Als Beispiel führt er *O. Wallichii*, *O. nodosa* und *O. Cumingii* an. Seinen Angaben fehlt jedoch jede anatomische Begründung. Dieselbe Ansicht vertritt in neuerer Zeit OGURA (1938, S. 193), der für die Wurzelträgernatur an Hand von *O. Wallichii* anatomische Beweise zu bringen versucht, die jedoch nicht zu überzeugen vermögen. Außerdem erwähnt dieser Autor dieselbe Organbildung für *O. neriiformis*, *O. pistillaris*, *O. benguetensis*, *O. Whitmei* und *O. Cumingii*. Die angeblichen Wurzelträger werden dabei definiert als Bildungen, die zwischen Sproßachse und Wurzel eine Mittelstellung einnehmen. In Wirklichkeit handelt es sich bei den Wurzelträgern von *Selaginella* aber um modifizierte Sprosse (vgl. TROLL 1937, S. 293 und 1949, S. 52). TROLL (1941—1943, S. 2230 und 1944, S. 31) unterzog die Darstellung OGURAs einer kritischen Betrachtung und kam zu folgendem Schluß: „Alles in allem kann gesagt werden, daß die vermeintlichen Wurzelträger mit Sprossen kaum etwas gemein haben. Vielmehr haben wir es mit veränderten Wurzeln zu tun, modifiziert dadurch, daß die typischen Wurzelcharaktere der jeweiligen Hauptwurzel teilweise fehlen und sich voll erst an deren Verzweigungen einstellen." Daß TROLL mit dieser Ansicht recht hat, bestätigen meine im folgenden dargelegten anatomischen Studien.

Ich benutzte zu meinen Untersuchungen *O. articulata* CAV., die OGURA zwar nicht untersucht hat, die aber *O. Wallichii* morphologisch und anatomisch sehr nahe steht. Außerdem gibt OGURA die sog. Wurzelträger als charakteristisch für die ganze Gattung *Oleandra* an, so daß es sich zweifellos in beiden Fällen um die gleichen Organe handelt.

O. articulata besitzt ein Rhizom von 3—5 mm Durchmesser, das mit angedrückten Schildhaaren dicht besetzt ist. Das Stelärsystem ist ähnlich ausgebildet wie bei *O. Wallichii* und setzt sich aus 5 konzentrisch angeordneten Hauptmeristelen zusammen und jeweils 1—2 zwischen ihnen liegenden Nebenmeristelen. Es liegt also eine perforierte Dictyostele vor. Die Dorsiventralität zeigt sich in der Stellung der ganzrandigen Blätter, die in 2, etwas auf die Oberseite verschobenen Blattzeilen angeordnet sind. Ohne Beziehung zu den Blättern treten Seitensprosse auf, die ziemlich unregelmäßig an den Flanken und an der Ventralseite stehen. Wurzeln entspringen der Unterseite in größeren Abständen (Abb. 1). Wie ich an einer üppigen Pflanze aus dem Münchener Botanischen Garten beobachten konnte, werden diese — ohne sich zu verzweigen — 20—30 cm lang, bevor sie das Substrat erreichen. Das Rhizom stelzt also auf seinen Wurzeln.

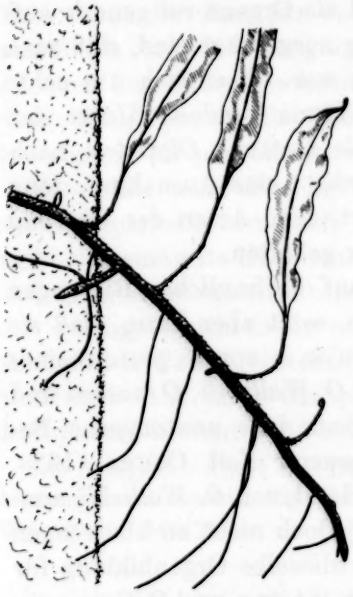


Abb. 1. *Oleandra articulata*. Sproß mit Luftwurzeln.

Die Anlegung der Wurzeln erfolgt am Vegetationspunkt oberflächennahe im Urmeristem, und zwar an der Grenzschicht der ventralen Provasculargstränge, deren Differenzierung unmittelbar unter dem Scheitelmeristem einsetzt. Die Wurzelscheitelzelle ist lediglich von der einen Zellage des Scheitelmeristems bedeckt (Abb. 2 I), die auch weiterhin keine Periklinalteilungen erfährt, so daß in älteren Stadien das Primordium unter der Epidermis liegt (Abb. 2 II). Seitwärts von der Wurzelscheitelzelle finden zahlreiche Periklinalteilungen in der Rinde statt, wodurch diese noch beträchtlich an Dicke zunehmen kann. Mit der Rindenverdickung vergrößert sich zugleich der Abstand zwischen Wurzelanlage und Sproßmeristele. Es bedarf daher der Ausbildung eines „Wurzelspurstranges", wie wir diese Verbindung nennen wollen, um den Zusammenhang zwischen beiden Teilen zu wahren. Wesentlich ist, daß der Wurzelspurstrang sich aus dem Gewebe eines Provascularstranges des Sprosses bildet und daß kein Wurzelgewebe daran beteiligt ist. Die der Wurzelspur aufsitzende Wurzelanlage baut im Laufe ihrer Weiterentwicklung den Wurzelkörper und die Wurzelhaube auf. Das hier geschilderte Verhalten ist charakteristisch für die Wurzelanlegung der *Leptosporangiaten* mit Ausnahme der *Osmundaceen*[1]. Mit v. GUT-

[1] WETTER 1951; Untersuchungen über Anordnung und Anlegung der Wurzeln bei leptosporangiaten Farnen. Unveröffentlicht.

TENBERG (1943, S. 70) wollen wir diese Art der Wurzelgenese als „mesogen" bezeichnen, wobei die Zahl der die Wurzelscheitelzelle bedeckenden Rindenschichten wechseln kann. Bei *Oleandra* ist nur eine Zellschicht, die Epidermis, vorhanden, so daß man zum Unterschied von den *Polypodium*-Arten, bei denen die Rinde über dem Wurzelprimordium aus 2 Zellagen besteht, hier vom *Oleandra*-Typ der mesogenen Anlegung reden kann. Während die Wurzelscheitelzelle proximal Segmente absondert, teilt sich die Epidermis, die Übergangsbildungen zwischen schildförmigen Schuppen und mehrzelligen Trichomen erkennen läßt, durch Antiklinalwände und nimmt zunächst am Aufbau der Wurzel teil (Abb. 2 III). Den Wurzelcharakter bestätigt auch ein Längsschnitt durch ein mehrere Zentimeter langes Wurzelorgan, dessen Scheitelzelle inzwischen eine Wurzelhaube gebildet hat (Abb. 2 IV). Diese liegt jedoch nicht in ihrer endgültigen Form vor, da sie noch von der Epidermis umgeben wird. Solange dies der Fall ist, geht die Haube kontinuierlich in die Rinde über und beteiligt sich an deren Aufbau. Wenn aber der Boden erreicht ist, durchbrechen die Wurzeln ihre Epidermistaschen (Abb. 3). Nun kommt ihre Struktur voll zur Geltung, indem die Wurzelhaube ihre eigentliche Funktion übernimmt und die einzelligen Wurzelhaare sich entwickeln (Abb. 2 V).

Der anatomische Bau des Zentralzylinders stimmt mit dem der meisten Farnwurzeln überein und zeigt ein diarches Gefäßbündel. Dementsprechend entstehen die Seitenwurzeln endogen in 2 Rhizostichen, sobald die Hauptwurzel in das Substrat eingedrungen ist. Im oberirdischen Teil hingegen ist die Wurzelverzweigung gänzlich gehemmt. Gleichwohl lassen sich anatomisch auch an den Luftwurzeln Anlagen von Seitenwurzeln nachweisen. Sie können nachträglich noch zur Entwicklung angeregt werden, wenn man die Luftwurzeln früh genug in feuchtes Substrat bringt.

Aus der durchgehenden Epidermis, den vielzelligen Trichomen und dem scheinbaren Fehlen einer Kalyptra an den Luftwurzeln schließt OGURA auf einen exogen angelegten „Wurzelträger" und bringt zur Unterstützung seiner Ansicht einen Längsschnitt bei (Figur 7, S. 200), der anatomische Einzelheiten, insbesondere die Scheitelzelle, vollständig vermissen läßt. Der Schnitt dürfte wohl nicht axial geführt worden sein. Ebenso überraschend wie das Auftreten von Wurzelträgern bei einem Farn, der zweifellos in die Verwandtschaft der *Polypodiaceen* gehört, muß auch die Feststellung anmuten, der „Wurzelträger" wachse mittels mehrerer gleichartiger Initialen. Es ist nämlich bisher kein Fall von Initialenwachstum eines Organs bei *Polypodiaceen* bekannt. Wahrscheinlich hat sich OGURA durch die Antiklinalteilungen der Epidermis zu dieser Annahme verleiten lassen.

Nachdem nun geklärt wurde, daß es sich einwandfrei um Wurzeln handelt, kann auch das Mißverständnis, das POIRAULT in bezug auf die

Wurzelhaare unterlaufen ist, berichtigt werden. Er ist nämlich der Ansicht, daß es ganz von den Umweltbedingungen abhänge, ob die Wurzelhaare einzellig bleiben oder eine Septierung erfahren. Bei den

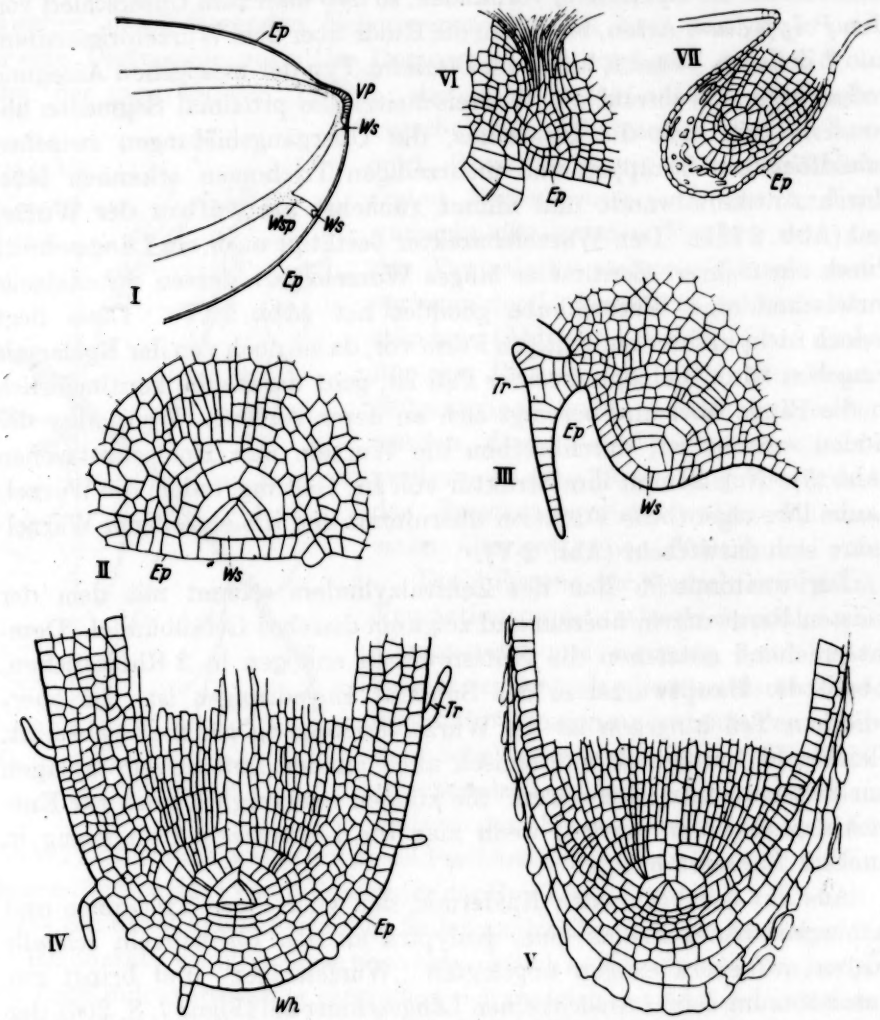


Abb. 2 I—VII. *Oleandra articulata*. I Längsschnitt durch eine Sproßspitze. An der ventralen Meristele sind 2 Wurzelspurstränge mit aufsitzenden Wurzelscheitelzellen ausgebildet (schematisiert). II Längsschnitt durch einen Sproß mit Wurzelscheitelzelle unter der Epidermis. III Längsschnitt durch einen Sproß mit einer etwas älteren Wurzelanlage als in II. IV Längsschnitt durch eine Luftwurzel, die noch von der Epidermis umgeben wird. V Längsschnitt durch die Spitze einer Erdwurzel. VI, VII *Polypodium vacciniifolium*. VI Wurzelanlage im Längsschnitt. VII Wurzel in einer Epidermistasche. *Ep* Epidermis; *Tr* Trichom; *VP* Vegetationspunkt; *Ws* Wurzelscheitelzelle; *Wsp* Wurzelspurstrang; *Wh* Wurzelhaube.

Luftwurzeln sollen sie nämlich septiert sein, während sie im Boden einzellig sind (POIRAULT S. 116; vgl. auch TROLL 1941—1943, S. 2023). In Wirklichkeit handelt es sich bei den mehrzelligen Bildungen um reduzierte Trichome der Epidermis; sie gehören also dem Sproßgewebe

an. Echte Wurzelhaare werden nur bei Erdwurzeln ausgebildet und sind wie üblich einzellig.

Die Taschenbildung der Epidermis steht bei den epiphytischen Formen der über alle Tropengebiete verbreiteten Gattung *Oleandra* nicht vereinzelt da. Als weiteres Beispiel sei *Polypodium vacciniifolium* angeführt. Wie bereits erwähnt, werden die Wurzelscheitelzellen hier von 2 Zellschichten bedeckt (*Polypodium*-Typ der mesogenen Anlegung), die zunächst dem Wachstum der Wurzeln durch zahlreiche Antiklinalteilungen folgen und sie bis zur Länge von mehreren Millimetern einhüllen können (Abb. 2 VI). Nach gewisser Zeit wird die innere Zellage aufgelöst, so daß eine Epidermistasche übrigbleibt (Abb. 2 VII), welche schließlich durchbrochen wird. Wurzeltaschen werden jedoch nur dann ausgebildet, wenn das Rhizom sich in der Luft befindet und die Wurzeln nicht sogleich das Substrat erreichen können. Bei *Davallodes hirsutum* konnte ich Wurzeltaschen von 2—3 cm Länge feststellen. Allein in der Gattung *Oleandra* ist die Bildung einer Tasche von einigen Dezimetern das übliche Verhalten, wodurch das Wachstum der Luftwurzeln überhaupt erst ermöglicht wird. Biologisch gesehen dürfte die Tasche einen Transpirationsschutz darstellen.

Abb. 3. *Oleandra articulata*. Wurzel mit aufgerissener Epidermistasche *Ep*; *Wh* Wurzelhaube.

Oleandra besitzt also echte Wurzeln, die meristembürtig sind und mesogen entstehen. Damit erübrigt sich auch die Aufstellung einer eigenen Familie, wie es Ogura auf Grund der „Wurzelträger" vorschlägt, zumal die Sporangien nach dem *Polypodiaceen*-Typus gebaut sind.

Literatur.

Bower, F. O.: The Ferns (Filicales) III. Cambridge 1928. — Guttenberg, H. v.: Die physiologischen Scheiden. In Handbuch der Pflanzenanatomie, Abt. I. Teil 2, Bd. 5. Berlin 1943. — Ogura, Y.: Anatomy and morphology of *Oleandra Wallichii* (Hk.) Pr. Jap. J. of Bot. **9**, 193 (1938). — Poirault, G.: Recherches anatomiques sur les cryptogames vasculaires. Ann. Sc. nat. Bot., VII. s. **18**, 113 (1893). — Troll, W.: Vgl. Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. 1, Teil 1. Berlin 1937; Bd. 1, Teil 3, Berlin 1941—1943. — Morphologie einschließlich Anatomie. Fortschr. Bot. **11** (1944). — Über Verzweigung und Wurzelträgerbildung bei *Selaginella*. Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss. Math.-naturwiss. Kl. **6**, Nr 10 (1949).

Die Anregung zur vorliegenden Arbeit verdanke ich Herrn Prof. H. Weber. Der Verwaltung des Münchener Botanischen Gartens danke ich für die freundliche Überlassung von Untersuchungsmaterial.

Dr. C. Wetter, Mainz, Botanisches Institut.

Planta, Bd. 39, S. 476—479 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Karlsruhe.

VERÄNDERUNGEN DES GYMNOSPERMENPOLLENS DURCH LAGERUNG.

Von

H. KÜHLWEIN und H. ANHAEUSSER.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Februar 1951.)

Bei den meisten *Angiospermen* bleibt das Pollenkorn, nachdem es aus der Anthere entlassen ist, nur kurze Zeit lebensfähig, bei *Gramineen* z. B. 1—2 Tage, bei *Antirrhinum* nur 3—4 Std (SMITH 1942). Dagegen ist der *Gymnospermen*pollen längere Zeit keimfähig, wobei allerdings bei älterem Pollenmaterial Keimung und Schlauchwachstum viel langsamer verlaufen (vgl. KÜHLWEIN 1937). Im folgenden wird nun über Versuche berichtet, die das unterschiedliche Verhalten des Gymnospermenpollens in frischem und gealtertem Zustand veranschaulichen. Dabei kam die von KÜHLWEIN (1937) angegebene Kultur im hängenden Tropfen zur Anwendung. Mit dem Ausdruck „Quellung" und „gequollen" wird ein Stadium erfaßt, das der eigentlichen Keimung vorangeht. Die Pollenkörner haben dabei nicht nur eine Größenzunahme erfahren, sondern lassen durch Stärkebildung erkennen, daß bereits Stoffwechselprozesse in Gang kommen. Als „gekeimt" werden erst diejenigen Körner bezeichnet, bei denen eben beginnendes Membranwachstum die Stelle der Pollenschlauchbildung kennzeichnet. Von „Schlauchwachstum" ist die Rede, wenn meßbare Keimschläuche gebildet sind.

An Pollenmaterial von *Ceratozamia*, *Pinus* und *Picea*, das von Anfang Juni bis Dezember 1949 untersucht wurde, konnte nicht nur eine Verzögerung der Keimung, sondern auch eine Abnahme der Keimfähigkeit beobachtet werden.

Am frischen Pollen wurde festgestellt, daß sich 2%ige Zuckerlösung besser als Nährmedium eignet als höhere Konzentrationen. Im August trat in 2%iger Zuckerlösung schon keine Keimung mehr ein, wohl aber in 10%iger; in 20%iger Lösung wiederum sind Keimung und Quellung schlechter, außerdem stark verzögert. Mitte Dezember wirkt dann die 20%ige Lösung weit besser als die 10%ige. Mit dem Altern des Pollens von Anfang Juni bis August und weiter bis Dezember hat sich also das Optimum der Keimung zu immer höheren Zuckerkonzentrationen hin verschoben. Angedeutet ist ein solches Verhalten schon in früheren Versuchen von KÜHLWEIN (1937).

Zwei Ursachen können zur Erklärung der Erscheinung ins Auge gefaßt werden. Einmal konnte mit dem Altern die Membranpermeabilität abnehmen und damit die Diffusion des Zuckers erschwert werden. Weiter wäre an einen Zusammenhang zwischen erhöhtem Zuckerbedarf und Intensivierung der Atmung zu denken. Der gealterte Pollen ist als Zelle im Ruhezustand zu betrachten. Zur Überwindung dieses Zustandes äußerst geringer Aktionsbereitschaft ist gesteigerte Atmungsintensität nötig, um so mehr, je tiefer die Ruhe war. Da der Zuckergehalt häufig begrenzender Faktor der Atmung ist, wäre für die zur Keimung nötige Steigerung der Atmung erhöhte Zuckeraufnahme erforderlich.

Nachdem von Mitte September ab eine *Keimung* auch in der 10%igen Lösung nicht mehr stattfand, wurden die *gequollenen* Körner einer Lösung in 6 Parallelkulturen ausgezählt und dabei derselbe Rückgang im Laufe der Zeit festgestellt.

Tabelle 1. *Pinus silv. Abnahme des Schlauchwachstums verschieden lange gelagerten Pollens.*

Versuch vom	Tage nach Versuchsbeginn	Schlauchlänge in μ
20. 6.	8. Tag	168,18
8. 7.	5. Tag	98,3
21. 7.	6. Tag	88,6
19. 8.	7. Tag	14,6

Wie die Keimung durch das Altern des Pollens nicht nur eine Verzögerung erfährt, sondern absolute Abnahme der Keimfähigkeit beobachtet wird, setzt auch das Schlauchwachstum verspätet ein und geht langsamer vonstatten. Die Schläuche erreichen auch nie die Länge der aus frischem Material hervorgegangenen, wie Tabelle 1 zeigt.

In den Kulturen vom 19. 8. waren erst am 5. Tag meßbare Schläuche vorhanden, die selbst nach rund 2 Wochen Versuchsdauer zu einer Länge von nur 16,2 μ herangewachsen waren.

Die Prozesse, die sich beim Altern des Pollens abspielen, sind wohl mit dem Altern von Samen vergleichbar. Bei gealtertem Hafer mit verminderter Keimkraft fördern Vitamin B_1, Nikotinsäure, sowie Glutathion und Vitamin C die Keimung (Ruge 1947). Am Beispiel des Aneurins sollte nun festgestellt werden, wie sich der gealterte Pollen einem Wirkstoff gegenüber verhält. Während beim frischen *Ceratozamia*pollen Hemmwirkung durch einen Aneuringehalt der Lösung von 10^{-4}—10^{-7}% stattfindet (vgl. Anhaeusser 1951), üben die gleichen Aneurinkonzentrationen nun einen fördernden Einfluß aus. In reinen Zuckerkulturen liegt die Keimung unter 0,01%. Das Aneurin kann hier nicht nur die Quellung fördern, sondern ruft in den beiden stärksten Konzentrationen (10^{-4} und 10^{-5}%) sogar Keimung hervor. Auch in der höherprozentigen Zuckerlösung (10%) kommt die Förderung der Quellung durch Aneurinzusatz klar zum Ausdruck (Abb. 1).

Ähnlich wie *Ceratozamia* verhält sich *Pinus*. Während bei frischem Material durch Aneurinzusatz ein starker Rückgang der Keimung zu

beobachten ist, wirkt die gleiche Aneurinkonzentration bei gealtertem Pollen keimungsfördernd. Auch die mit 10%iger Zuckerlösung angesetzte Aneurinreihe fördert die Keimung des *Pinus*pollens gegenüber der Grundlösung; dabei bewirken gleiche Aneurinmengen in 10% Zucker eine deutlich stärkere Keimung als in 2% Zucker. Bei *Pinus* liegt das Quellungsoptimum bei 10^{-6}% Aneurin in schwächerer Konzentration als bei *Ceratozamia*. 3 Wochen später ergibt dieselbe Versuchsreihe viel geringere Keimprozente bei gleichzeitiger Verschiebung des Optimums zur höheren Aneurinkonzentration (10^{-5}%).

Der in reiner Zuckerlösung nicht mehr keimende, nur noch zu einem geringen Prozentsatz quellende *Pinus*pollen reagiert nach Aneurinzusatz über Quellung und Keimung hinaus sogar mit deutlichem Schlauchwachstum.

Ein Vergleich der Aneurinwirkung am alten und frischen Material erweist die Hemmung des gut

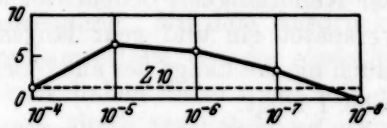


Abb. 1. Quellung von *Ceratozamia* in 10%iger Zuckerlösung mit Aneurin. Abszisse: Prozentgehalt der Lösung an Aneurin. Ordinate: Anzahl der gequollenen Körner in Prozent. *Z 10*: Anzahl der gequollenen Körner in der Vergleichszuckerlösung.

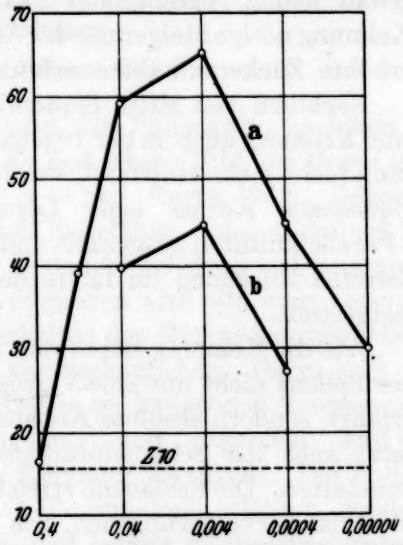


Abb. 2. Quellung von *Pinus* in 10%iger Zuckerlösung mit T-Vitamin. Abszisse: Prozentgehalt der Lösung an T-Vitamin. Ordinate: Anzahl der gequollenen Körner in Prozent. *Z 10*: Anzahl der gequollenen Körner in der Vergleichszuckerlösung.

keimenden *Pinus*pollens erst recht als Wirkung eines Konzentrationsüberschusses an förderndem Stoff, wofür auch der Aneurinnachweis von Sagromsky (1947) in frischem *Pinus*pollen spricht. Je weiter der Pollen gealtert ist, um so größer muß die Dosis des zugeführten Wirkstoffes gewählt werden, um gleiche Förderung zu erzielen. Dies läßt folgern, daß der Pollen nach längerer Lagerung nicht mehr so viel Aneurin in wirksamer Form enthält wie der frische, und deshalb höhere Aneurinzufuhr benötigt. Die Verminderung des Aneuringehaltes kann aber nicht *allein* für das Altern des Pollens maßgeblich sein, denn zu normalem Schlauchwachstum sind die Körner trotz des Aneurinzusatzes nicht befähigt.

Ein weiteres Beispiel für das Altern des *Pinus*pollens und seine Reaktion auf Wirkstoffzusatz liefern Versuche mit T-Vitamin (Präparat der Firma „Pharmazell"). Die Quellung der bereits abgelagerten Körner

wird durch T-Vitamin stark gefördert (Abb. 2, a). Vom 4. Tag an ist sogar Schlauchwachstum zu beobachten, das bei größerem Wirkstoffzusatz (0,004%) bedeutende Steigerung gegenüber einer Konzentration von 0,0004% T-Vitamin erfährt. In der Vergleichszuckerlösung tritt kein Schlauchwachstum auf. Nach genau 6 Wochen wurde der Versuch in den 3 T-Vitaminkonzentrationen, die sich im ersten Versuch besonders günstig erwiesen hatten, wiederholt. Die Keimfähigkeit in Zuckerlösung hatte inzwischen weiter nachgelassen (3,68% gequollene Körner gegenüber 15,78% beim vorhergehenden Versuch). Der fördernde Einfluß ist nun weniger stark, die Form der für die Quellung in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration aufgezeichneten Kurve bleibt aber völlig erhalten (Abb. 2, b). Weitere 4 Wochen später konnte derselbe T-Vitaminzusatz nur noch viel geringere Förderung erzielen und die höchste Konzentration erwies sich am wirksamsten (vgl. die Versuche mit Aneurin).

Nachdem das Schlauchwachstum des gealterten Pollens durch Wirkstoffzusätze begünstigt (vgl. ANHAEUSSER 1951) und der in reiner Zuckerlösung nicht mehr keimende Pollen durch diese Wirkstoffe zur Keimung gebracht werden konnte, ist anzunehmen, daß die Alterungserscheinungen mit dem Wuchsstoffhaushalt des Pollens in Zusammenhang stehen. Dabei kann sowohl an Änderungen im Wuchsstoffgehalt selbst, als auch an die verschiedene Reaktionsfähigkeit der Zelle (Plasmaänderungen) diesen Stoffen gegenüber gedacht werden.

Literatur.

ANHAEUSSER, H.: Physiologie der Pollenkeimung der Gymnospermen mit besonderer Berücksichtigung des Wuchsstoffproblems. Beitr. Biol. Pflanz. **1951**. — KÜHLWEIN, H.: Zur Physiologie der Pollenkeimung, insbesondere der Frage nach dem Befruchtungsverzug bei Gymnospermen. Beih. bot. Cbl. **57** (1937). — SAGROMSKY, H.: Über einige Bestimmungen des Vitamin-B_1-Gehaltes von Pollen mit Hilfe des Phycomycestestes. Biol. Zbl. **66**, 140 (1947). — SMITH, P. F.: Studies of the growth of pollen with respect to temperature, auxins, colchicin and vitamin-B_1. Amer. J. Bot. **29**, 56 (1942). — RUGE, U.: Untersuchungen über keimungsfördernde Wirkstoffe. Planta (Berl.) **35**, 297 (1947).

Dozent Dr. H. KÜHLWEIN, Karlsruhe,
Botanisches Institut der Technischen Hochschule.

Planta, Bd. 39, S. 480—499 (1951).

Aus den Botanischen Anstalten der Universität Göttingen und dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule München in Weihenstephan.

ÜBER STRUKTURVERÄNDERUNGEN AN CHROMOZENTRENKERNEN UNTER DEM EINFLUSS VON AMINOSÄUREN UND ÄHNLICHEN SUBSTANZEN.

Von

ILSE HÖVERMANN.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. April 1951.)

A. Einleitung.

Als Chromatinkörper, deren Färbbarkeit im Ruhekern erhalten bleibt, sind die Chromozentren schon lange bekannt und von verschiedenen Forschern unter verschiedenen Namen beschrieben worden (Literatur bei TISCHLER 1934). Sehr zeitig erkannte man ihre Beteiligung an der Chromosomenbildung, die z. B. der Name „Prochromosomen" (ROSENBERG 1904) zum Ausdruck bringt. Die näheren Zusammenhänge wurden vor allem von HEITZ (1929, 1933) aufgeklärt, der auf Grund der telophasischen Lage der Chromozentren nachweisen konnte, daß es immer ganz bestimmte Chromosomenabschnitte sind, die in der Telophase nicht entspiralisiert werden und die er im Gegensatz zu den übrigen Chromosomenteilen als „heterochromatisch" bezeichnete. In weiteren Arbeiten stellte sich heraus, daß diese heterochromatischen Chromosomenstücke genarm sind, daher für die Vererbung nicht von besonderer Bedeutung sein können, aber dafür bei anderen Vorgängen im Kern eine Rolle spielen könnten.

Eine Beteiligung an stoffwechselphysiologischen Prozessen deutete sich an in Beziehungen zwischen bestimmten heterochromatischen Chromosomenabschnitten und Nukleolus, wie sie neben HEITZ (1933) auch von MCCLINTOCK (1934) festgestellt und neuerdings von CASPERSSON und THORELL (1941) besonders betont wurden. Weiteren Aufschluß über einige stoffwechselphysiologische Leistungen des Kerns brachten dann die Arbeiten von CASPERSSON (1936, 1939/40a, b), in denen durch Messung der Absorptionsspektren im U. V. sehr genaue Angaben über die Verteilung der Nukleinsäuren sowie der Eiweißstoffe des Kerns und deren Auf- und Abbau im Verlauf der verschiedenen Phasen der Kernteilung gemacht werden konnten. Dabei zeigte sich eine enge Beziehung zwischen Heterochromatin und Produktion von Eiweiß vom Histontyp — demselben übrigens das auch im Nukleolus nachgewiesen wurde —, womit seine Beteiligung am Eiweißstoffwechsel nicht mehr bezweifelt werden kann.

Um weitere Einblicke in die Funktion des Heterochromatins im Zellstoffwechsel zu bekommen, sollte unter den weiter unten erläuterten Gesichtspunkten untersucht werden, wieweit durch ein Angebot von Eiweiß bzw. seinen Bausteinen die Ausbildung des Heterochromatins, am besten erkennbar in den Chromozentren der Ruhekerne, zu beeinflussen ist.

In diesem Zusammenhang sind eine Reihe von alten Arbeiten wichtig, in denen beiläufig erwähnt wird, daß die Chromozentren unter bestimmten Umständen, die sich immer irgendwie auf gesteigerten Stoffwechsel — oder zumindest verschiedene physiologische Zustände im Kern — zurückführen lassen, besonders deutlich oder besonders groß sind. So berichtet z. B. schon PETERS (1891), daß die „Nebennukleolen" in einem bestimmten Stadium der Keimung von Lupinensamen besonders deutlich sind, ZACHARIAS (1895) stellte fest, daß die „Chromatinkörner" von *Cucurbita pepo* in Geleitzellen besonders groß und in alten Kernen größer sind als in jüngeren, OVERTON (1905) beobachtete, daß die „Prochromosomen" nur in gut ernährten Zellen deutlich hervortreten, und LAIBACH (1907) fiel ganz allgemein ein Unterschied in der Größe der „Chromatinkörner" in verschiedenen Geweben auf. Zunahme der Deutlichkeit der Chromozentren mit zunehmendem Alter hob weiter DE SMET (1914) und später noch GEITLER (1933) hervor. Deutlicher weisen auf eine Stoffwechseltätigkeit der Chromozentren Arbeiten hin, die über Veränderungen des Chromatingehalts in Kernen von Zellen berichten, die von einem Mykorrhizapilz befallen sind (z. B. MAGNUS 1900, BACCARINI 1908) oder andere Infektionen aufweisen (Literatur bei TISCHLER 1934). Besonders wichtig sind aber die umfassenden Versuche von HUIE (1897, 1899) und ROSENBERG (1899, 1908/09, 1909) die durch Fütterung mit verschiedenen Substanzen, vor allem Fleisch, Brot, Pepton, Hühnereiweiß und Legumin, experimentell eine Steigerung des Chromatingehalts der Kerne in *Drosera*-Tentakeln erzeugten. Die Identität dieser „sekundären" Chromozentren in gereizten oder lebhaft funktionierenden Zellen mit den normalen Chromozentren wird allerdings immer wieder angezweifelt und wurde nie klar bewiesen, obwohl CASPERSSON (1936) zeigte, daß sich in Vorderdarmzellen von *Helix pomatia* der Gehalt an Nukleinsäure in verschiedenen Funktionsphasen ändert und MILOVIDOV (1936, so zitiert 1949) an „sekundären" Chromozentren in Mykorrhizazellen, Gallen und Trichozyten mit großen Kernen eine positive Nuklealreaktion erhielt. Auch Veränderungen des Heterochromatingehalts in Kernen von *Drosera*-Wurzeln, die ROSENBERG (1899) durch Fütterung mit Pepton erzeugte, läßt MILOVIDOV (1949) nicht als Beweis gelten, da infolge von Bakterieninfektionen Degenerationserscheinungen nicht ausgeschlossen waren. Deshalb sollten die hier unternommenen Untersuchungen 1. in steriler Kultur, die die oben erwähnten Zweifel MILOVIDOVs ausschließt, 2. an Wurzeln, für deren Chromozentren die Identität

mit heterochromatischen Chromosomenabschnitten sicher ist, 3. an jungen, meristematischen Geweben, die sich teilen und 4. durch Fütterung mit chemisch wohldefinierten Substanzen, die normalerweise im Stoffwechsel auftreten, wie z. B. Aminosäuren, zu klären versuchen, ob auch die „echten" Chromozentren auf solche Stoffe ansprechen, um eventuell aus der Art der wirksamen Stoffe und der auftretenden Reaktion Hinweise auf die Rolle des Heterochromatins beim Eiweißstoffwechsel der Zelle zu erhalten.

B. Experimenteller Teil.

I. Material und Methoden.

Brauchbare Versuchsobjekte mußten außer einer klaren Kernstruktur mit Chromozentren 1. noch glatte, feste Samen haben, die sich einwandfrei sterilisieren lassen und durch die Desinfektionsmittel nicht geschädigt werden, 2. möglichst hohe Keimkraft und kurze Keimungsdauer besitzen und 3. auch in der Organkultur ein befriedigendes Wachstum zeigen. Diese Anforderungen erfüllten *Impatiens balsamina*[1] und *Sinapis alba* (Erbachshofer Senf von der Bayerischen Landessaatzuchtanstalt Weihenstephan).

Die Samendesinfektion wurde nach den Anweisungen von KLEIN und KISSER (1924) vorgenommen: Ausgesuchte Samen wurden zunächst je 2 min in Seifenwasser, 96%igem Alkohol und dann Äther gebadet, wobei sie in ihren Kölbchen kräftig geschüttelt wurden. Danach kamen sie für 45 min in das eigentliche Desinfektionsmittel, 1%iges Bromwasser. In einem Impfkasten, der durch Einleiten von Wasserdampf keimfrei gemacht worden war, wurden die Samen dann nach einmaligem Waschen mit sterilem Wasser in ebenfalls sterilen Petrischalen mit feuchtem Filterpapier zum Keimen ausgelegt. Bei *Sinapis* hatte die Keimwurzel nach 3—4 Tagen und bei *Impatiens* die Keimwurzel sowie jeweils 4 direkt unter dem Hypokotyl entspringende Seitenwurzeln nach 7 Tagen eine Länge von je einigen Zentimetern erreicht, so daß, ebenfalls im Impfkasten, die Wurzelspitzen abgeschnitten werden konnten.

Um die isolierten Wurzelspitzen sofort in Nährlösung zu haben, wurden sie in einer Petrischale, in Nährlösung untergetaucht, abgeschnitten. Darauf kamen die Wurzelspitzen — jeweils 5 — in 100-cm³-Erlenmeyer-Kolben mit je 40 cm³ der Nährlösung nach WHITE (1934) folgender Zusammensetzung:

1000 cm³ doppelt destilliertes Wasser, 20 g Rohrzucker, 20 cm³ Trockenhefeextrakt[2], 98 mg $Ca(NO_3)_2$, 74 mg $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, 81 mg KNO_3, 65 mg KCl, 12 mg KH_2PO_4, 2,6 mg $Fe_2(SO_4)_3 \cdot 2\,H_2O$.

In dieser Grundnährlösung (p_H 5,5—5,6) wuchsen die Wurzelspitzen zunächst 6—7 Tage heran. Sie standen dabei in einem Nordzimmer bei 18° C. Kulturen, die durch Bakterien infiziert waren, wurden nach 2—3 Tagen trüb und wurden ausgesondert, ebenso Wurzeln, die in der Nährlösung ihr Wachstum nicht fortsetzten. Wieder im Impfkasten wurde dann die Normallösung aus den Kulturkolben vor-

[1] Herr Prof. Dr. STRAUB stellte entgegenkommenderweise Samenmaterial einer reinen Linie zur Verfügung, wofür an dieser Stelle vielmals gedankt sei.

[2] Genaue Anweisung für die Herstellung des Hefeextraktes bei WHITE (1932).

sichtig abgegossen, wobei die Wurzeln am Boden des Kolbens hängenblieben, und durch die Versuchslösungen ersetzt. Diese enthielten die einzelnen Zusätze in den jeweils für sie angegebenen Konzentrationen. Leider standen nicht alle Aminosäuren zur Verfügung, die als Eiweißbausteine wichtig sind, und so ist die untenstehende Zusammenstellung der angewendeten Stoffe notgedrungen etwas zufällig. Benutzt wurden die folgenden Verbindungen:

1. Glykokoll (Glycocollum purum Schering und Kahlbaum), 2. Alanin (α-Alanin reinst Schering und Kahlbaum), 3. Valin (dl-Valin Schuchardt), 4. Leucin (Leucin reinst Schering und Kahlbaum), 5. Cystein (Cystein hydrochloricum Merck 2839), 6. Cystin (Cystin Merck 2836), 7. Asparaginsäure (Acidum asparaginicum Schering und Kahlbaum), 8. Glutaminsäure (Glutaminsäure Merck), 9. Asparagin, 10. Arginin, 11. Phenylalanin (alte im Institut vorhandene Präparate), 12. Tyrosin (l-Tyrosin Merck 8371), 13. Tryptophan (Tryptophan Merck 8368), 14. Histidin (l-Histidinmonochlorhydrat), 15. Hydroxylamin (Hydroxylaminum hydrochloricum Merck 416), 16. Glucosamin (Glucosamin hydrochloricum Schuchardt), 17. Leucylglycin (Leucylglycin Kahlbaum), 18. Pepton (Pepton Witte).

Für jede Versuchsreihe wurden je 5 Kolben mit anfangs 5 Wurzelspitzen angesetzt, die auch während der Dauer der Behandlung (meist 5 Tage) noch heranwuchsen und Seitenwurzeln bildeten, so daß in den ungünstigsten Fällen 30 bis 40 Wurzelspitzen zum Fixieren zur Verfügung standen. Die Wurzeln wurden dazu noch in der Nährlösung, die hierfür wieder in Petrischalen ausgegossen wurde, etwa $^1/_2$ cm lang abgeschnitten und mit Formol-Chrom-Essigsäure nach NAVASHIN fixiert. Für die Untersuchungen wurden Längsschnitte durch die Wurzelspitzen — bei *Impatiens* 10, bei *Sinapis* 8 μ dick — hergestellt. Diese wurden mit Gentianaviolett nach OEHLKERS (1940/41) gefärbt, wobei die Pikrinsäure für *Impatiens* noch 1:2 und für *Sinapis* 1:1 mit 95%igem Alkohol verdünnt wurde, da die Farbe sonst zu schnell ausgezogen wurde.

Wie schon in der Einleitung betont wurde, unterliegt der Gehalt der einzelnen Zellkerne an Heterochromatin je nach Alter und Gewebeart zum Teil sehr erheblichen Schwankungen. Daher mußten für die Vergleiche genau entsprechende Teile der Wurzel ausgewählt werden[1]. Weiter genügte es nicht, nur einzelne Kerne herauszugreifen, sondern es mußte jeweils ein möglichst großer Gewebeausschnitt zum Vergleich herangezogen werden. Am besten geeignet war hierfür die Zone direkt hinter dem Vegetationspunkt, deren Kerne ein verhältnismäßig gleichartiges Aussehen zeigten.

Da eine exakt messende Erfassung der Heterochromatinmenge im Kern nicht möglich ist, wurden als Versuchsprotokolle von jeder Serie Zeichnungen hergestellt. Hierfür wurden gute mediane Längsschnitte ausgewählt, um in jedem Falle gleichartige Gewebe zu vergleichen.

Alle Zeichnungen wurden mit Hilfe des ABBEschen Zeichenapparates angefertigt (Leitz-Optik, Immersion $^1/_{12}$, Okular 15mal, Vergrößerung bei 35 cm Spiegelabstand 2800mal). Es wurden immer sämtliche Chromozentren eines Kerns eingetragen.

II. Ergebnisse der Versuche an *Impatiens balsamina*.

a) Kernbau in den Kontrollen. Abb. 1.

In den Kontrollen, also Wurzelkulturen, die in der Grundnährlösung herangewachsen waren und nach 5 Tagen eine neue Nährlösung derselben

[1] Siehe Fußnote zu Abb. 1.

Zusammensetzung erhalten hatten, zeigten die Kerne der Wurzelspitze das in Abb. 1[1] wiedergegebene Aussehen: Die kugeligen bis eiförmigen Kerne haben einen Längsdurchmesser von etwa 20 μ (13—24 μ), während der Querdurchmesser um 14 μ (11—17 μ) beträgt. Die Chromosomen liegen als kleine knopfige Gebilde an der Oberfläche des Kerns. Ihre Zahl beträgt oft 14, wie es zu erwarten ist, da sie nach den Angaben von HEITZ (1929), GRÉGOIRE (1932), DOUTRELIGNE (1932) und SMITH (1934) der Chromosomenzahl entsprechen soll. Häufig ist die Zahl aber auch geringer, sei es dadurch, daß einzelne Chromozentren von anderen überdeckt werden, oder daß manche Chromozentren ihre Färbbarkeit verloren, wie es GRÉGOIRE (1932) und SMITH (1934) annehmen. Die Spindelansatzstelle ist oft gut zu sehen, aber keineswegs immer, wie SMITH (1934) angibt und wie man es erwarten sollte, da die Chromozentren von *Impatiens* die der Spindelansatzstelle benachbarten proximalen Chromosomenabschnitte sind [HEITZ (1929) und auch SCHAEDE (1937), der seine Untersuchungen übrigens mit der Nuklealreaktion durchführte].

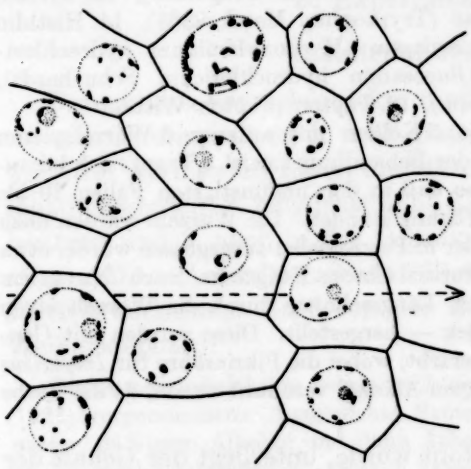


Abb. 1. *Impatiens*, Kontrolle.

Sehr deutlich tritt sie aber in Prophasen hervor. In Kernen dieses Stadiums konnte ihre Zahl immer mit 14 festgestellt werden. Die Größe der Chromozentren schwankt etwas von einem Kern zum anderen, im Gesamteindruck ist die Kernstruktur in dem gewählten Gewebeausschnitt jedoch einigermaßen einheitlich. Der Nukleolus ist nicht in allen Kernen zu erkennen, tritt meist aber doch als mehr oder weniger großer Körper hervor, der etwas intensiver gefärbt ist als der übrige Kernraum. Die Kernmembran zeigt sich nicht besonders deutlich, ist aber immer so zu erkennen, daß der Kernraum gut umgrenzt werden kann. Zellteilungen waren in allen Präparaten reichlich vorhanden. In Metaphasen konnte die Chromosomenzahl 14 bestätigt werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die Kerne der isolierten Wurzeln von *Impatiens* in der Grundnährlösung ein Aussehen aufweisen, das bis auf geringe Abweichungen in Einzelheiten der Chromozentren-

[1] Die Abbildungen geben durchweg die Hälfte der zentralen Partie eines medianen Längsschnittes durch die Meristemzone einer Wurzelspitze wieder, dessen mediane Längsachse als Pfeil mit der Spitze zur Wurzelhaube hin eingetragen ist. Vergrößerung 2800mal, für den Druck auf $^1/_2$ verkleinert.

struktur gut mit den Angaben aus der Literatur übereinstimmt und auch Bildern entspricht, die eigene Präparate von normal, d. h. im Zusammenhang mit der Pflanze gewachsenen Wurzeln zeigen, so daß sie einen guten Ausgangspunkt zur Feststellung von Veränderungen durch bestimmte Einflüsse bieten.

b) Kernbau nach Behandlung mit Aminosäuren und den übrigen Substanzen. Abb. 2—8.

Die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen können hier nur in den wesentlichsten Punkten geschildert und durch Abbildungen belegt werden. Alles Weitere ist zusammenfassend in der Tabelle 1, S. 492 dargestellt und im Anschluß daran besprochen.

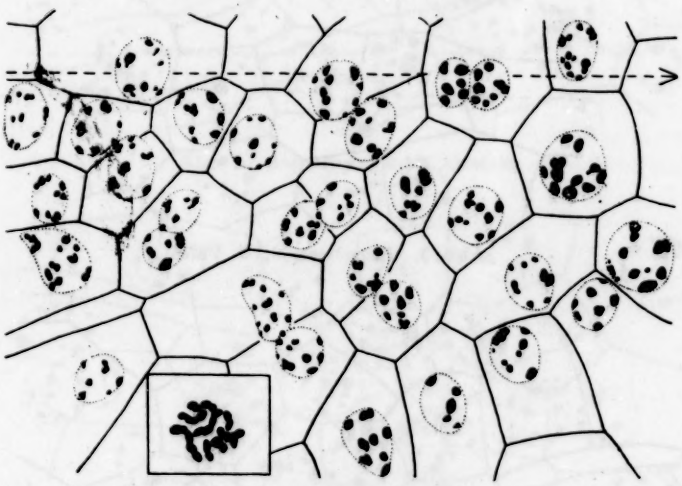


Abb. 2. *Impatiens*, 0,1% Leucin. Unten links Metaphaseplatte mit der normalen diploiden Chromosomenzahl.

In den Wurzelspitzen von *Impatiens balsamina* zeigten sich nach den verschiedenen Zugaben von Aminosäuren zu der Grundnährlösung sehr mannigfaltige Veränderungen der Kernstruktur, von denen in den meisten Fällen die Abweichungen im Heterochromatingehalt am auffälligsten waren. Ganz besonders eindeutig konnte eine starke Heterochromatinvermehrung nach 5tägiger Behandlung mit 0,1% Leucin (Abb. 2) und 0,05% Arginin festgestellt werden. In beiden Fällen enthielten die Kerne, die gegenüber den Kontrollen etwas verkleinert waren, auffällig große Chromozentren in nicht geringerer Anzahl als die Kontrollen. Alle Chromozentren waren sehr intensiv gefärbt. Sie erschienen tief dunkelviolett und traten an der Oberfläche der Kerne deutlich hervor, ließen aber keinerlei Strukturen, wie z. B. die Spindelansatzstellen, erkennen. Während bei der Leucinbehandlung trotz der starken Veränderungen der „Ruhekerne" in den Wurzelspitzen viele normale Teilungen (Abb. 2, unten links) gefunden wurden, wirkten die Wurzeln nach Argininzusatz

geschädigt und zeigten keine Teilungen. Der Nukleolus war nach beiden Behandlungen seltener zu finden als in den Kontrollen und immer nur schwach rosa getönt.

Nur wenig geringer war die Heterochromatinvermehrung nach Zusatz von 0,1% Valin (Abb. 3) und 0,1% Asparaginsäure (Abb. 4) zur Nähr-

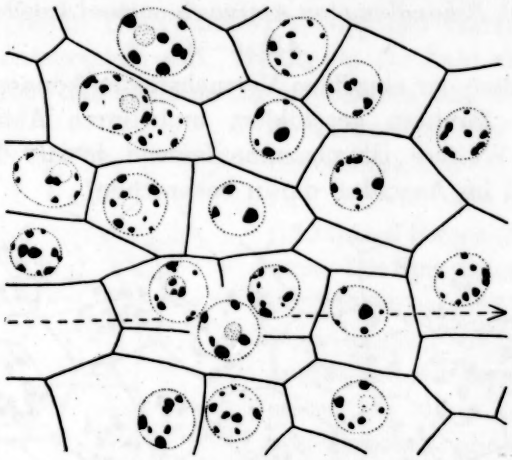


Abb. 3. *Impatiens*, 0,1% Valin.

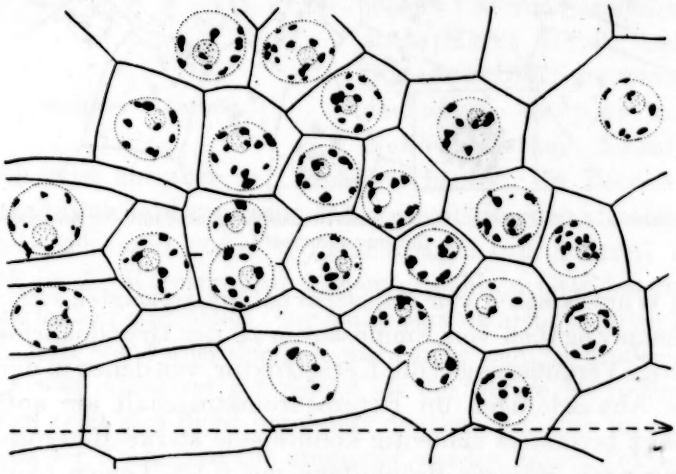


Abb. 4. *Impatiens*, 0,1% Asparaginsäure.

lösung. Im Gegensatz zur Wirkung der erstgenannten Substanzen war aber das Kernvolumen hier oft größer als in den Kontrollen. Als weitere Abweichung zeigte sich nach Valinbehandlung eine Neigung des Heterochromatins zur Bildung von Sammelchromozentren (Abb. 3), weshalb in manchen Kernen nicht mehr als 3 oder 4 Chromozentren zu finden waren. Der Nukleolus war besonders durch die Asparaginsäurebehandlung besser färbbar geworden (Abb. 4). Teilungen waren vorhanden.

Zum größten Teil hatten die untersuchten Substanzen [Glykokoll, Alanin, Cystein (Abb. 5), Glutaminsäure, Asparagin (Abb. 6), Phenylalanin, Tryptophan, Pepton (Abb. 8)] bei 5tägiger Behandlung in der meistbenutzten Konzentration von 0,1% keine so starke Wirksamkeit

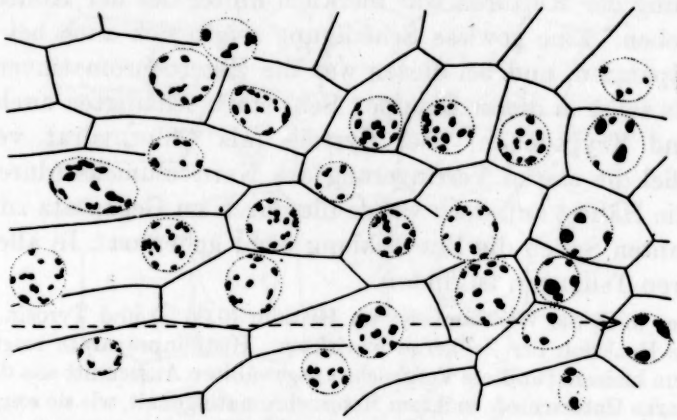


Abb. 5. *Impatiens*, 0,1% Cystein.

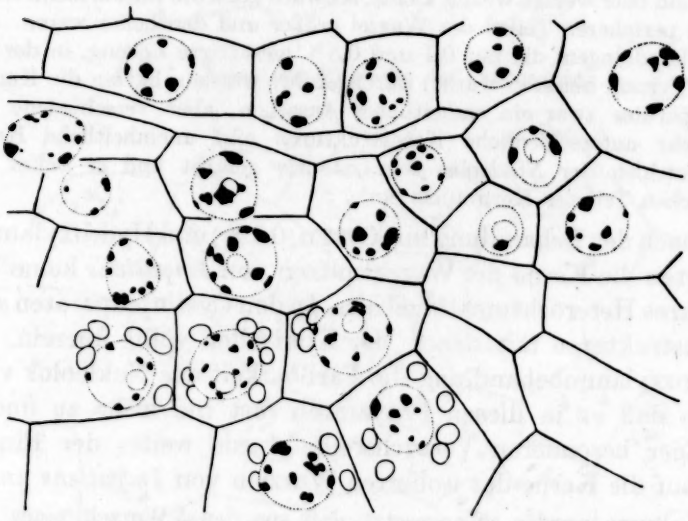


Abb. 6. *Impatiens*, 2% Asparagin. Die mediane Längsachse der Wurzel verläuft hier etwa parallel zum oberen Rand der Abbildung in 15 mm Abstand.

wie die vorstehenden 4 Stoffe, riefen jedoch auch eine deutliche Heterochromatinvermehrung hervor. Diese beschränkte sich manchmal auf die Zellkerne in der Zone direkt hinter der Wurzelhaube oder war dort besonders deutlich (Abb. 5). Die Färbung der Nukleolen war wieder sehr variabel. Auffällig war ihre oft sehr dunkle Tönung in den Glutaminsäurepräparaten. In ihnen und nach Asparaginbehandlung fiel auch eine Ablagerung von großen Stärkekörnern, wie sie sonst nur in Zellen der Wurzelhaube vorkommen, in den zentralen Partien der Wurzelspitze

auf. Die Zellen der Asparaginpräparate waren gesund und zeigten Teilungen (Abb. 6), während die Glutaminsäurebehandlung die Wurzeln offenbar geschädigt hatte. Die Kerne lagen oft deformiert in den plasmaarmen Zellen, Teilungen wurden nicht gefunden. Die makroskopische Entwicklung der Kulturen war merklich hinter der der Kontrollen zurückgeblieben. Eine gewisse Schädigung zeigte sich auch bei manchen Alaninpräparaten, und bei diesen war die Heterochromatinvermehrung stärker als sonst in dieser Gruppe. Sehr stark schädigten auch Phenylalanin und Tryptophan. Bei Cystein (als Chlorhydrat verwendet, Abb. 5), fiel die starke Verringerung des Kernvolumens (durchschnittlich auf die Hälfte) auf, doch wurde hierdurch im Gegensatz zu den vorher erwähnten Serien die Entwicklung nicht gehemmt. In allen Präparaten waren Teilungen zu finden.

Unsicher blieb die Wirksamkeit von Histidin (0,05%) und Tyrosin, die keine einheitliche Reaktion der Zellkerne bewirkten. Histidinpräparate zeigten immer schon in dem kleinen, für diese Vergleiche ausgewählten Ausschnitt aus der Wurzelspitze so starke Unterschiede in ihrem Heterochromatingehalt, wie sie sonst nirgends gefunden wurden. In den zentralen Partien der Wurzelspitze besaßen die Kerne meist nur ein oder wenige winzig kleine, schwach gefärbte Chromozentren, während sie in den peripheren Teilen der Wurzel größer und deutlicher waren. Nach den Tyrosinbehandlungen, die mit 0,1 und 0,5% (gesättigte Lösung, in der das überschüssige Tyrosin belassen wurde) durchgeführt wurden, hatten die Kerne jeweils eines Präparates zwar ein einheitliches Aussehen, aber verschiedene Präparate zeigten sehr unterschiedliche Kernstrukturen und uneinheitliche Kerngrößen. Überall erschien der Nukleolus sehr intensiv gefärbt und er nahm oft einen beträchtlichen Teil des Kernraums ein.

Nur nach der Behandlung mit Cystin (0,1%) und Hydroxylamin (sogar 1%) zeigten die Kerne der Wurzelspitzen von *Impatiens* keine Veränderungen ihres Heterochromatingehalts. In den Cystinpräparaten stimmten die Kernstrukturen mit denen der Kontrollen völlig überein, während die Hydroxylaminbehandlung die Färbbarkeit des Nukleolus verringert hatte, so daß er in diesen Präparaten fast nie mehr zu finden war.

In einer besonderen Versuchsreihe wurde weiter der Einfluß von Pepton auf die Kerne der isolierten Wurzeln von *Impatiens* untersucht.

Die Kulturen wurden so angesetzt, daß von den 5 Wurzeln eines Keimlings (vgl. S. 482) jeweils eine Wurzelspitze als Kontrolle in die Grundnährlösung gebracht wurde, während den übrigen 4 zu dieser Grundnährlösung 1% Pepton zugegeben wurde. Die Wurzelspitzen dieser Kulturen wurden an 3 aufeinanderfolgenden Tagen, also nach 1-, 2- und 3tägiger Behandlung, aber immer zur gleichen Tageszeit, fixiert. Die Abb. 7 und 8 zeigen also Ausschnitte aus 2 Wurzelspitzen der gleichen Pflanze, von denen beide zuerst in Grundnährlösung gewachsen waren, wonach die eine (Abb. 7) dann 3 Tage in eine neue Grundnährlösung kam, eine andere (Abb. 8) dagegen in eine solche mit 1% Pepton. Den mit Pepton behandelten Wurzelspitzen wird hier nochmals eine Kontrolle gegenübergestellt, da diese Serie zu einer anderen Zeit kultiviert wurde als die zur Prüfung der Wirkung der Aminosäuren, und da weiter die verschiedenen Behandlungen an Wurzeln ein und derselben Pflanze vorgenommen wurden.

Die Präparate von Kontrollen waren hier etwas schlechter färbbar, so daß besonders kleine Chromozentren oft nur schwer zu erkennen waren. Ihre Kerne zeigten sonst aber eine gute Übereinstimmung mit den Kontrollen der Aminosäurenserie. Allerdings trat hier der Nukleolus,

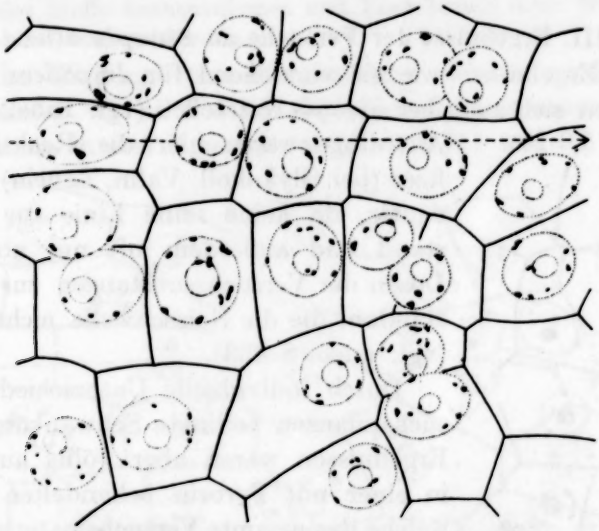


Abb. 7. *Impatiens*, Kontrolle der Peptonserie.

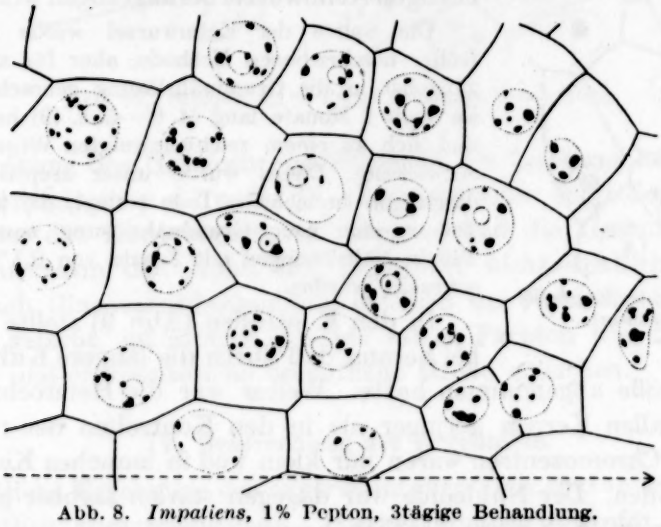


Abb. 8. *Impatiens*, 1% Pepton, 3tägige Behandlung.

zart rötlich-violett gefärbt, immer in Erscheinung, während er in Abb. 1 manchmal fehlt. Nach Peptonbehandlung (Abb. 8) war der Nukleolus in den Präparaten, jetzt rosa getönt, immer gut zu finden. Die Chromozentren waren viel intensiver gefärbt als in den Kontrollen und verhältnismäßig groß. Obwohl es schwierig ist, ihr Gesamtvolumen abzuschätzen, dürfte die Heterochromatinmenge den Kontrollen gegenüber durchschnittlich verdoppelt sein. Da das Kernvolumen außerdem nicht

unbeträchtlich verringert war, wirkten die Kerne sehr heterochromatinreich. Kernteilungen waren in den Peptonpräparaten nicht so zahlreich wie in den Kontrollen, zeigten aber normale Bilder und ließen in manchen günstig gelegenen Metaphaseplatten Chromosomenzahlen um 14 feststellen.

III. Ergebnisse der Versuche an *Sinapis alba*.

Ähnliche Ergebnisse, wie sie vorstehend für *Impatiens* geschildert wurden, ließen sich auch bei *Sinapis* feststellen (vgl. Tabelle 1, S. 492). Allerdings waren hier die Reaktionen häufiger (bei Glykokoll, Valin, Leucin) nicht eindeutig, da keine reine Linie zur Verfügung stand und außerdem oft nur noch geringe Dosen der Versuchssubstanzen zur Verfügung standen, die die Reizschwelle nicht erreichten (vgl. auch S. 493).

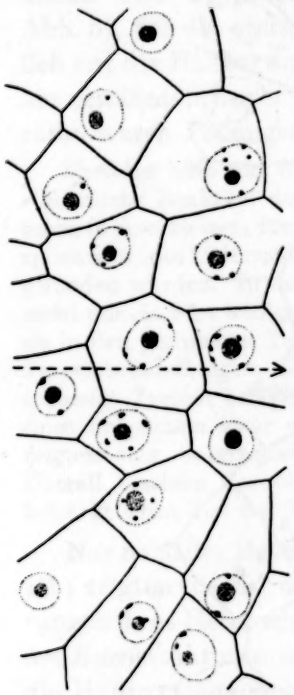


Abb. 9. *Sinapis*, Kontrolle der Tyrosinserie.

Durch individuelle Unterschiede der Versuchspflanzen bedingte Schwankungen in den Ergebnissen waren aber völlig ausgeschaltet in einer mit Tyrosin behandelten Serie, für welche das gesamte Versuchsmaterial aus einer einzigen Keimwurzel herangezogen worden war.

Die Spitze der Keimwurzel wurde nach der früher beschriebenen Methode, aber für sich allein, zunächst in die Grundnährlösung gebracht, in der sie etwa 2 Monate lang (4. 6.—5. 8. 49) heranwuchs und sich zu einem reichverzweigten Wurzelgeflecht entwickelte. Dieses wurde unter aseptischen Bedingungen in mehrere Teile zerlegt, die zum einen Teil in eine neue Grundnährlösung, zum anderen Teil in Nährlösungen mit Zusatz von 0,1% Tyrosin gebracht wurden.

In den Kontrollen (Abb. 9) stellte sich dabei heraus, daß durch die längere Kulturdauer die Kerngröße abgenommen hatte. Weiter war die Heterochromatinmenge in allen Kernen geringer als in den Kontrollen der regulären Serie. Die Chromozentren waren nur klein und in manchen Kernen gar nicht zu finden. Der Nukleolus war dagegen stärker färbbar geworden und trat in allen Kernen deutlich hervor.

Die Tyrosinpräparate dieser Versuchsreihe hatten deutlich mehr Heterochromatin als die Kontrollen, und zwar besaßen sie zum Teil sehr große Chromozentren (Abb. 10), so daß sie auch trotz des vergrößerten Kernvolumens wesentlich heterochromatinreicher sind als die Kontrollen.

Es war ursprünglich geplant, alle Versuche in der eben geschilderten Weise an den „Nachkommen" einer einzigen Wurzel durchzuführen, um Uneinheitlichkeiten des Materials auszuschalten. Leider war das nicht möglich, da die Wurzeln durch

längere Kulturdauer immer feiner, die Kerne kleiner und die Färbbarkeit ihrer Strukturen schlechter wurde. Weiter wurde die Entwicklung der Kulturen mit der Zeit doch langsamer, bis sie schließlich stehenblieb. Außerdem hätte diese Methode die Untersuchungen so kompliziert, daß nur wenige Substanzen hätten getestet werden können, während hier der größere Wert darauf gelegt wurde, den Einfluß möglichst vieler Stoffe kennenzulernen und Einzelheiten ihrer Wirksamkeit nur weniger beachtet werden konnten.

Neben der Wirkung von einfachen Aminosäuren wurde an *Sinapis* auch der Einfluß von Glucosamin und Leucylglycin untersucht. Dabei rief Glucosamin in den Konzentrationen von 0,1 und 0,5% einheitlich

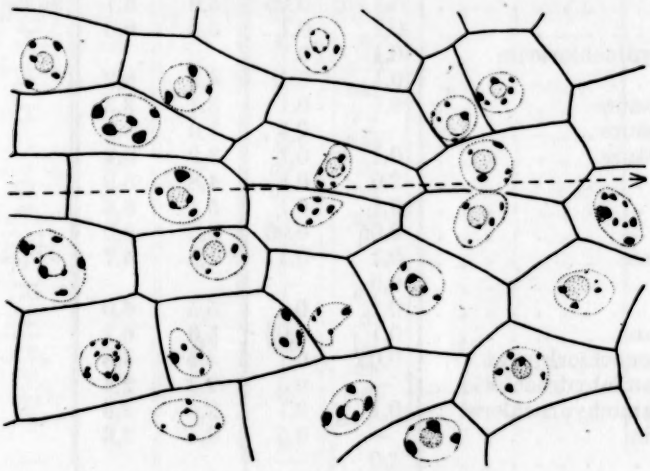


Abb. 10. *Sinapis*, 0,1 % Tyrosin, 3tägige Behandlung.

eine Erhöhung des Heterochromatingehalts der Zellkerne hervor, während Leucylglycin wohl auch die Chromozentren vergrößerte, gleichzeitig aber das Kernvolumen so steigerte, daß die Gesamtmenge an Heterochromatin den Kontrollen gegenüber nicht deutlich vermehrt war. Nach Glucosaminbehandlung erschien der Nukleolus immer sehr intensiv gefärbt, oft in dem gleichen satten Farbton wie die Chromozentren, und er konnte eine beachtliche Größe erreichen.

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Sämtliche Ergebnisse des experimentellen Teils sind in der Tabelle 1 übersichtlich zusammengefaßt. Hierbei ergaben sich für bestimmte Gruppen von Substanzen sehr charakteristische Veränderungen der Kernstruktur.

Die Aminosäuren bewirkten in der Regel (Ausnahmen s. unten) eine Steigerung des Heterochromatingehalts der Zellkerne sowie meist auch eine bessere Färbbarkeit der Chromozentren. Ebenso reagierten die Pflanzen auf die Behandlung mit Asparagin, Pepton und Glucosamin. Hydroxylamin, dem vielfach eine Rolle bei der Eiweißsynthese zugeschrieben wurde,

Ta-

	Verwendete Konzentration in %		p_H-Wert[1] der Lösung		Kerngröße	
	Imp.	*Sin.*	fr.	alt	*Imp.*	*Sin.*
Kontrollen			5,5	6,2	=	=
Glykokoll	2,0	0,1	5,7	6,2	—	+ (—)
Glykokoll	1,0				—	
Alanin	0,1	0,1	5,7	6,0	—	=
Valin	0,1	0,05	5,9	6,7	= (+)	+ (—)
Leucin	0,1	0,1	5,4	6,0	—	=
Cystein hydrochloricum	0,1	0,1			——	——
Cystin	0,1	0,1	4,8	5,2	=	+
Asparaginsäure	0,1	0,1	3,1	3,3	—	—
Glutaminsäure	—	0,5	3,0	3,1		= (+)
Glutaminsäure	0,1	0,1	3,2	3,4	——	——
Asparagin	2,0	0,5	4,8	5,9	=	=
Asparagin	0,1	0,1	5,1	6,4	=	=
Arginin	0,05	0,05	7,5	8,0	——	=
Phenylalanin	0,1	0,1	4,6	4,7	— (=)	—
Tyrosin	0,5	—			—	
Tyrosin	0,1	0,1	5,5	6,0	—	+
Tryptophan	0,1	0,03	5,6	6,1	——	—
Histidinmonochlorhydrat	0,05	0,1	4,4	4,8	=—	=—
Hydroxylaminhydrochlorid	—	0,5	2,2	2,4		—
Hydroxylaminhydrochlorid	0,1	0,1	2,6	2,8	=	—
Glucosamin	—	0,5	3,4	3,6		+ (—)
Pepton	1,0	—			—	

ergab dagegen eindeutig keine Veränderungen der Kernstruktur. Die hier erzielten Ergebnisse zeigen also eine spezifische Reaktion des Heterochromatins auf die Zufuhr von Eiweißbausteinen und bestätigen so auf neue Weise seine Beteiligung am Eiweißstoffwechsel. Die Vergrößerung der Chromozentren durch die Aminosäuren läßt annehmen, daß ihre besondere Aufgabe in der Aufnahme und Weiterverarbeitung dieser Stoffe zu sehen ist. Dabei ist es interessant, daß die Kerne der hier untersuchten Wurzeln in ähnlicher Weise verändert wurden wie die Kerne mit sog. „sekundären" Chromozentren in Drüsenzellen von *Drosera*.

Vor allem in der Vergrößerung der Chromozentren ähneln die hier erzielten Ergebnisse nämlich denen von HUIE (1897, 1899) und ROSENBERG (1899, 1909), die bei der Fütterung von *Drosera*-Tentakeln „Chromatinansammlungen" in den Zellkernen feststellten. Allerdings war die Reaktion in den Kernen jener Zellart weitaus stärker, als sie hier erhalten wurde. Wenn man aber berücksichtigt, daß die starke Chromatin-

[1] Gilt jeweils für die für *Sinapis* angegebenen Konzentrationen; = den Kontrollen entsprechend; — verringert gegenüber den Kontrollen; + gesteigert gegenüber den Kontrollen; g gehemmt; u ungefärbt; h hell gefärbt; d dunkel gefärbt. In Klammern gegebene Zeichen bedeuten, daß diese Verhältnisse nur in wenigen Fällen beobachtet wurden.

belle 1.

Heterochromatinmenge		Färbbarkeit		Färbung des Nukleolus		Teilungen		Makroskopische Entwicklung der Kulturen	
Imp.	*Sin.*	*Imp.*	*Sin.*	*Imp.*	*Sin.*	*Imp.*	*Sin.*	*Imp.*	*Sin.*
=	=			uh	uh	++	++	=	=
+	—(+)	=	=	h	dhu	+++	—	=	=
				h		+++		=	
=+	+	=	+	uh	h(ud)	++(—)	+	=	=
++	—(+)	+	—(+)	uh	dh	+	+(—)	+	+
+++	+(=)	+	+(—)	uh	d(hu)	+	+(+)	=	=
+	+	+	—	u	u	+	++	+	++
=	+++	—	+	h	hdu	+	+	=	=
++	++	+	+	h	hdu	++	++	+	++
	+		—=		hu		+		+
+	+	+	+	d(h)	dhu	+	++	—	+
+	+++	+	+	uh	u	+	—	+	=
+	=	=	—	uh	hu	+	++	+	=
+++	++	+	+	uh	dh	—	—(+)	g	=
=+	++	+	+	d	d		—	g	=g
+				d		—		g	
—+	+		+	d	hu	—	+—	g	—
+	+	+	+	uhd	d	—	—	g	g
+—	+	—	+	hd	hd	+	—	=	—
	=		=		uh		++		+++
=	=	=	=	uh	uh	+	++		+++
	+		+		d(uh)		+(—)		=
+		+		h		+		=	

vermehrung dort an Organen erzielt wurde, die speziell auf die Aufnahme und Verarbeitung organischer Stoffe eingestellt sind, und daß die Nährstoffe in sehr konzentrierter Form geboten wurden, so erscheint es nur natürlich, daß die von uns erzielten Veränderungen weniger auffällig waren.

Neben der bloßen Vergrößerung der Chromozentren führte die Fütterung der *Drosera*-Tentakel auch immer zur Verschmelzung der zuerst einzeln liegenden Chromatinmassen, bis schließlich nur noch ein einziger dicker Chromatinfaden festzustellen war. Ein Schritt in diese Richtung mag die hier manchmal (z. B. in der *Impatiens*-Serie bei Valin- und Asparaginsäurebehandlung) beobachtete Neigung des Heterochromatins zur Bildung von Sammelchromozentren sein.

In der vorliegenden Arbeit wurde häufig wie bei *Drosera* eine Verkleinerung des Kernvolumens beobachtet und manchmal auch eine weniger deutliche Ausbildung der Kernmembran. Während aber in den Kernen der Tentakel von *Drosera* der Nukleolus in allen Versuchen einheitlich kleiner wurde, doch immer färbbar blieb, sind für die Nukleolen der Wurzelkerne keine für alle Versuchsserien gleichsinnigen Veränderungen festzustellen, sondern gerade die große Variabilität ihrer Reaktionen bez. Kernvolumen und Intensität der Färbung ist für die Nukleolen charakteristisch.

Betrachtet man die Art der wirksamen Substanzen, so ergeben sich weitere wichtige Parallelen. Hier verursachten, wie oben erwähnt, nur die Aminosäuren bzw. andere Eiweißbausteine eine Vergrößerung der Heterochromatinmenge. Ebenso kamen HUIE und ROSENBERG zu dem Ergebnis, daß nur solche Substanzen, die als Nährstoffe von Wert sind (Hühnereiweiß und Pepton nach HUIE) oder eiweißreiche Substanzen (außer Hühnereiweiß und Pepton vor allem Fleisch und Legumin nach ROSENBERG) die Chromatinansammlungen in den Zellkernen bewirken. Paraffin, einige Salze und Kork z. B. blieben ohne Wirkung, während andere, wie Mannit, Käse, Kasein und Zucker nur eine schwache Chromatinvermehrung hervorriefen.

Die einzelnen Aminosäuren bewirkten ganz verschieden starke Veränderungen im Heterochromatingehalt der Zellkerne. Auch reagierten die beiden Versuchsobjekte nicht in allen Fällen gleich stark auf die gleiche Behandlung. So erwiesen sich bei *Impatiens* Arginin und Leucin sowie in etwas geringerem Maße auch Valin und Asparaginsäure als am stärksten wirksam. Bei *Sinapis* waren es Asparagin und Cystin bzw. Asparaginsäure, Arginin und Phenylalanin, die die stärkste Heterochromatinvermehrung hervorriefen. Besonders auffällig zeigte sich eine verschiedenartige Reaktion der beiden Versuchsobjekte bei der Behandlung mit Cystin, die die Heterochromatinmenge von *Impatiens* unverändert ließ, während die von *Sinapis* ganz erheblich vermehrt wurde. Dieses Verhalten läßt sich wohl durch die Annahme einer verschieden hohen Reizschwelle für die Reaktion auf diese Substanz am besten verstehen, die hier für *Impatiens* höher lag, wie es zum Beispiel auch bei Asparagin für *Sinapis* der Fall ist, wo sich bei 0,1% noch keine Wirkung zeigte, während 0,5% eine starke Heterochromatinvermehrung hervorrief.

Für die wenig befriedigenden Ergebnisse an *Sinapis* bei der Behandlung mit Glykokoll und Valin ist die Verwendung zu geringer Konzentration sicher mit ein Grund. Für die *Sinapis*-Reihe standen von diesen Substanzen nur noch geringe Mengen zur Verfügung, so daß die Versuche mit den angegebenen niedrigen Konzentrationen angesetzt werden mußten. Es scheint aber nach den oben erwähnten Ergebnissen bei der Asparaginbehandlung an *Sinapis*, weiter bei 0,05% Histidin für *Impatiens* und 0,1% für *Sinapis* und ebenso 0,1% und 0,5% Tyrosin für *Impatiens*, daß sich bei Verwendung höherer Konzentrationen die Ergebnisse ausgeglichen hätten. Da die fraglichen Substanzen zur Zeit der Durchführung der Versuche nicht zu beschaffen waren, konnten diese Vermutungen nicht nachgeprüft werden.

Bei Berücksichtigung der *Struktur der wirksamen Substanzen* ist in der *Impatiens*-Serie eine Steigerung der Heterochromatinvermehrung mit *zunehmender Kettenlänge der Aminosäuren* von Alanin über Leucin zu Valin hin festzustellen. Glykokoll muß dabei außer acht gelassen

werden, da es in höherer Konzentration angewendet wurde. Weiter fallen durch einheitliche Effekte Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan auf, also die Gruppe der Aminosäuren, die sich vor den anderen durch den Besitz des *Benzolringes* auszeichnen. Neben den gewohnten Kernveränderungen (Steigerung des Heterochromatingehalts und Verkleinerung des Kernvolumens) hemmen sie, oft schon bei Verwendung geringer Dosen, die Entwicklung der Wurzeln und schädigen sie so, daß in den Wurzelspitzen nur noch selten Zellteilungen gefunden werden.

Histidin, das zwar einen heterozyklischen Imidazolkern enthält, im Gegensatz zur vorigen Gruppe aber keinen Benzolring besitzt, hatte keine so ausgesprochen toxische Wirkung, obwohl auch hier bei der Verwendung von 0,1% bei *Sinapis* Zellteilungen ausblieben und die Weiterentwicklung der Kulturen schlechter war als die der Kontrollen. Die Heterochromatinvermehrung ist nur bei *Sinapis* eindeutig festzustellen, doch ist sie auch hier nicht besonders erheblich. Da Histidin und Arginin nach Caspersson (1939/40a) aber gerade das Baumaterial für die Purin- und Pyrimidingruppen der Nukleinsäuren darstellen, wäre eine besonders starke Reaktion auf das Angebot dieser Stoffe zu erwarten gewesen. Nach Behandlung mit Arginin ist die Heterochromatinvermehrung sowohl bei *Impatiens* als auch bei *Sinapis* tatsächlich sehr erheblich. Es ist möglich, daß die an sich gute Wirksamkeit des Histidins hier nicht zur Geltung kam, weil es in der Form seines Monochlorhydrats angewendet wurde, in welcher es seine typische Eigenschaft, den basischen Charakter, verloren hat.

Die Beteiligung des Nukleolus an diesen Stoffwechselvorgängen, die besonders Caspersson und Thorell (1941) wahrscheinlich machten, zeigt sich in diesen Versuchen nicht so klar. Es wurde aber manchmal beobachtet (z. B. *Sinapis* nach Alanin-, Valin- und Histidinbehandlung), daß im Nukleolus bzw. an seiner Oberfläche Körnchen oder Schollen auftraten, die die gleiche intensiv dunkelviolette Färbung aufwiesen wie die Chromozentren. Weiter zeigt die Durchsicht der Tabelle 1 auf S. 492 f., daß bei 13 von den 17 untersuchten Substanzen der Nukleolus wenigstens in einigen Fällen eine dunklere Färbung annimmt als bei den Kontrollen. Manchmal kann die Färbung auch genau so intensiv und im gleichen Farbton gehalten sein wie die des Heterochromatins. Dies zeigt zumindest an, daß die Zusammensetzung des Nukleolus sehr stark schwankt und daß er wahrscheinlich auch an dem hier gesteigerten Eiweißstoffwechsel teilnimmt.

Die Entwicklung der Kulturen war bei allen Zusätzen, abgesehen von den vorstehend besonders erwähnten Substanzen mit Benzolkern, normal und in vielen Fällen besser als die der Kontrollen. Dies fiel besonders in der *Sinapis*-Serie bei Hydroxylamin auf, bei dessen Zusatz sich die Wurzelkulturen trotz des niedrigen p_H-Wertes der Lösung (2,2—2,8)

am besten entwickelten. Dem guten Wachstum entsprechend fanden sich in den meisten Präparaten auch viele Zellteilungen.

Im speziellen Teil wurde bei den betreffenden Versuchsserien bereits darauf hingewiesen, daß die Zellteilungen normal aussahen und keinerlei Schädigungen aufwiesen. An gut gelegenen Metaphaseplatten in behandelten und unbehandelten Wurzeln ließ sich die Chromosomenzahl feststellen. Wie Abb. 11 zeigt, ist es immer die normale diploide Zahl, gleich, ob der Gehalt der „Ruhekerne" an Heterochromatin erhöht ist oder nicht.

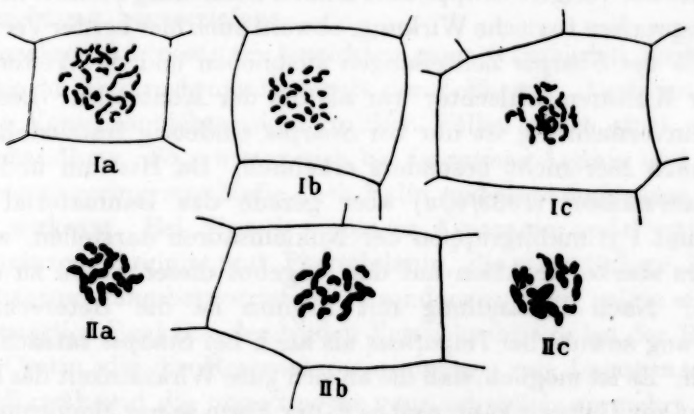


Abb. 11. Metaphaseplatten mit den normalen diploiden Chromosomenzahlen. *I. Sinapis alba*, $2n = 24$; *a* 0,5% Glutaminsäure; *b* 0,1% Asparaginsäure; *c* 0,1% Glucosamin. *II. Impatiens balsamina*, $2n = 14$; *a* 0,1% Leucin; *b* Kontrolle; *c* 0,1% Cystein.

Dies Ergebnis ist insofern überraschend, als sowohl ROSENBERGs Mitteilungen (1899) über seine Peptonversuche an Wurzeln von *Drosera* auf eine Polyploidie ähnlich der nach Colchicinbehandlung hindeuten, als auch manche Befunde GEITLERs an Kernen mit vergrößerten Chromozentren diesen Gedanken nahelegen. ROSENBERG beobachtete nach 4tägiger Behandlung der *Drosera*-Wurzeln mit 1%iger Peptonlösung neben der Chromatinvermehrung der Kerne das Ausbleiben von Teilungen, und die wenigen vorhandenen erschienen unregelmäßig. An die Colchicinwirkung erinnert dort weiter die nur undeutliche Ausbildung der Spindel. Diese Angaben wurden aber alle nur nebenbei gemacht und ROSENBERG wollte keineswegs solche Fragen mit seinen Versuchen klären.

Ähnliche Ergebnisse wie die vorstehenden von ROSENBERG wurden aber in keiner der Versuchsreihen erhalten, obwohl in einer *Impatiens*-Serie auch Pepton, und zwar in der ROSENBERGschen Konzentration von 1%, angewendet wurde. Die eigentlichen Ursachen, die die von ROSENBERG beobachtete Wirkung hervorbrachten, sind also sicher nicht der Peptonzusatz zur Nährlösung, sondern wahrscheinlich Infektionen,

die auch MILOVIDOV (1949) als Einwand gegen die Ergebnisse von ROSENBERG anführt und für die ja bekannt ist, daß sie polyploidisierende Wirkungen haben können.

Weiter werden allgemein Kerne mit vergrößerten Chromozentren, wie sie besonders in Zellen mit trophischen Funktionen vorkommen, als polyploid betrachtet (z. B. GEITLER, 1941). GEITLER (1940) und JÄHNL (1946) z. B. gelang es in vielen Fällen, die vermutete Polyploidie durch Auslösung von Mitosen direkt zu beweisen, und in anderen Fällen (GEITLER 1944, 1948) wurde die endomitotische Polyploidisierung durch eine sorgfältige Strukturanalyse und Vergleich der untersuchten Kerne mit solchen aus Geweben, in denen man Mitosen hatte auslösen können, wahrscheinlich gemacht. Außerdem betont GEITLER (1948) besonders, daß solche Analysen nur zusammen mit Volumenmessungen von Wert sind, die eine Vergrößerung der Kerne feststellen. Diese Tatsache scheint nach den hier vorgefundenen Ergebnissen von besonderer Wichtigkeit zu sein, denn auf Grund des oft recht großen Heterochromatingehalts der Zellkerne hätte man auch hier mit endomitotischer Polyploidie rechnen können.

Neben dem Nachweis, daß sich der Heterochromatingehalt der Kerne auch in meristematischen, undifferenzierten Geweben durch Aminosäuren und andere Eiweißbausteine beeinflussen läßt und sich dabei meist steigert, zeigen die Versuche, daß in dieser Art der Reaktion eine Übereinstimmung mit den in lebhaft funktionierenden Zellen oft beobachteten „sekundären" Chromozentren besteht, die es erlaubt, diese nur als durch die besonderen Aufgaben bestimmter Kerne stark veränderte, aber sonst normale Chromozentren anzusehen und keinen grundsätzlichen Unterschied mehr zwischen diesen beiden Strukturelementen der „Ruhekerne" zu machen.

Zusammenfassung.

In steriler Organkultur wurde die Wirkung von Aminosäuren und einigen anderen Substanzen mit strukturellen Beziehungen zum Eiweiß auf junge, undifferenzierte Kerne in den Wurzelspitzen von *Impatiens balsamina* und *Sinapis alba* untersucht.

Gegenüber den Kontrollen ergab sich bei Zusatz von Aminosäuren zur Nährlösung eine Steigerung des Heterochromatingehalts der Zellkerne. In der gleichen Weise wirkten Pepton, Glucosamin und Asparagin. Hydroxylamin ließ den Heterochromatingehalt der Kerne sowie ihre Struktur unverändert.

Von den typischen Histonbestandteilen Arginin und Histidin steigerte nur Arginin den Heterochromatingehalt, und zwar sehr stark.

Die hier erzeugten hyperchromatischen Kerne waren nicht polyploid, wie es auf Grund eines Peptonversuches von ROSENBERG und oft

nachgewiesener endomitotischer Polyploidie in Kernen mit gesteigerten trophischen Funktionen hätte erwartet werden können. Sie zeigten normale diploide Mitosen.

Die Häufigkeit der Zellteilungen war gegenüber den Kontrollen in manchen Serien gesteigert, das Wachstum und die Entwicklung der Kulturen öfters gefördert.

Die Vergrößerung der Chromozentren, die hier nicht so erheblich war wie z. B. in den Drüsenzellen von *Drosera*, erscheint als ein Schritt auf dem Wege zu jenen großen Chromatinansammlungen der sog. „sekundären" Chromozentren, deren Vorhandensein für alle Kerne mit gesteigertem Stoffwechsel typisch ist und als Ausdruck eben dieser Tätigkeit gilt. Das hier nachgewiesene Vorhandensein der gleichen oder einer ähnlichen Fähigkeit für Chromozentren, die sicher heterochromatische Chromosomenabschnitte sind und deren Gehalt an Thymonukleinsäure mittels der Nuklealreaktion nachgewiesen ist, macht es wahrscheinlich, daß diese bisher immer voneinander unterschiedenen Strukturelemente der „Ruhekerne" nur verschieden starke Ausprägungen ein und desselben „Kernorganells" sind.

Die vorliegende Arbeit wurde an den Botanischen Anstalten der Universität Göttingen begonnen und am Botanischen Institut der Technischen Hochschule München in Weihenstephan zu Ende geführt. Herrn Prof. Dr. H. v. WITSCH gilt mein besonderer Dank für die Anregung und stete Förderung der Arbeit. Desgleichen danke ich Herrn Professor Dr. R. HARDER, der durch Gewährung eines Arbeitsplatzes in seinem Institut die Inangriffnahme dieser Untersuchungen ermöglichte.

Literatur.

BACCARINI, P.: Sulle cinesi vegetative del „Cynomorium coccineum L.". Nuovo Giorn. Bot. Ital., N. S. **15**, 189 (1908). — CASPERSSON, T.: Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkerns. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.), Suppl. 8 **73** (1936). — Die Eiweißverteilung in den Strukturen des Zellkerns. Chromosoma **1**, 562 (1939/40a). — Nukleinsäureketten und Genvermehrung. Chromosoma **1**, 605 (1939/40b). — CASPERSSON, T., u. B. THORELL: Der endozelluläre Eiweiß- und Nukleinsäurestoffwechsel in embryonalem Gewebe. Chromosoma **2**, 132 (1941). — DOUTRELIGNE, J.: Chromosomes et nucléoles dans les noyaux du type euchromocentrique. Cellule **42**, 29 (1933). — EICHHORN, A.: Sur l'existence de prochromosomes dans les noyaux du Sinapis nigra. C. r. Soc. Biol. Paris **112**, 535 (1933a). — Observations vitales sur les noyaux à structure non réticulée. C. r. Soc. Biol. Paris **112**, 1625 (1933b). — GEITLER, L.: Das Verhalten der Chromozentren von Agapanthus während der Meiose. Österr. bot. Z. **82**, 277 (1933). — Die Polyploidie in den Dauergeweben höherer Pflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **58**, 131 (1940). — Das Wachstum des Zellkerns in tierischen und pflanzlichen Geweben. Erg. Biol. **18**, 1 (1941). — Der Bau der Riesenkerne des Elaiosoms von Corydalis cava. Chromosoma **2**, 544 (1941/44). — Notizen zur endomitotischen Polyploidisierung in Trichozyten und Elaiosomen sowie über Kernstrukturen bei Gagea lutea. Chromosoma **3**, 271 (1948). — GRÉGOIRE, V.: Euchromocentres et chromosomes dans les végétaux. Acad. roy. Belg. Bull. Cl. Sci. **17**, 1435 (1932). —

Heitz, E.: Heterochromatin, Chromocentren, Chromomeren. Ber. dtsch. bot. Ges. **47**, 274 (1929). — Die Herkunft der Chromocentren. Planta (Berl.) **18**, 571 (1933). — Huie, L.: Changes in the cell organs of Drosera rotundifolia, produced by feeding with egg-albumen. Quart. J. microsc. Sci., N. s. **39**, 387 (1897). — Further study of cytological changes produced in Drosera. II. Quart. J. microsc. Sci., N. s. **42**, 203 (1899). — Jähnl, G.: Endomitotische Polyploidie in sukkulenten Laubblättern. Chromosoma **3**, 48 (1947). — Klein, G., u. J. Kisser: Die sterile Kultur der höheren Pflanzen. Bot. Abh. 1924, H. 2. — Laibach, F.: Zur Frage der Chromosomenindividualität im Pflanzenreich. Beih. bot. Cbl., Abt. 1 **22**, 191 (1907). — Löve, A., and D. Löve: Chromosome numbers of northern plant species. Reykjavik 1948. — Magnus, W.: Studien an der endotrophen Mykorrhiza von Neottia Nidus avis L. Jb. wiss. Bot. **35**, 205 (1900). — McClintock, B.: The relation of particular chromosomal element to the development of the nucleoli in Zea mays. Z. Zellforschg **21**, 294 (1934). — Milovidov, P. F.: Physik und Chemie des Zellkerns. Teil 1. Protoplasma-Monographien Bd. 20. Berlin 1949. — Oehlkers, F.: Über Chromosomenfärbungen mit Gentianaviolett. Z. Bot. **36**, 55 (1940/41). — Overton, J. B.: Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen. Histologische Beiträge zur Vererbungsfrage. Jb. Bot. **42**, 121 (1905). — Peters, Th.: Untersuchungen über den Zellkern in den Samen während ihrer Entwicklung, Ruhe und Keimung. Diss. Rostock 1891. — Rosenberg, O.: Physiologisch-cytologische Untersuchungen über Drosera rotundifolia. Diss. Bonn 1899. — Über die Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. Flora (Jena) **93**, 251 (1904). — Cytologische und morphologische Studien an Drosera longifolia × rotundifolia. Kungl. svenska Vetenskapsakad. Handl., N. F. **43**, 1 (1908/09). — Über den Bau des Ruhekerns. Svensk. bot. Tidskr. **3**, 163 (1909). — Schaede, R.: Untersuchungen mit der Nuklealreaktion an Kern und Kernteilung. Planta (Berl.) **26**, 167 (1937). — de Smet, E.: Chromosomes, prochromosomes et nucléoles dans quelques Dicotylées. Cellule **29**, 333 (1914). — Smith, F. H.: Prochromosomes and chromosome structure in Impatiens. Proc. Amer. phil. Soc. **74**, 193 (1934). — Tischler, G.: Allgemeine Pflanzenkaryologie. In Handbuch der Pflanzenanatomie, 2. Aufl. Berlin 1934. — White, Ph. R.: Influence of some environmental conditions on the growth of excised root tips of wheat seedlings in liquid media. Plant Physiology **7**, 613 (1932). — Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. Plant Physiology **9**, 585 (1934). — Zacharias, E.: Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. Flora (Jena) **81**, 217 (1895).

Dr. I. Hövermann, Botanisches Institut
der T. H. München, Weihenstephan bei München.

Planta, Bd. 39, S. 500—526 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim.

ÜBER ASSIMILATION UND ATMUNG DER PFLANZEN IM WINTER BEI TIEFEN TEMPERATUREN*.

Von

OTTI ZELLER.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. April 1951.)

Einleitung.

Die Frage, ob Pflanzen mit grünen Assimilationsorganen im Winter an bestimmten Tagen eine positive Stoffbilanz aufweisen, d. h. in 24 Std mehr assimilieren als atmen, wurde schon lange diskutiert und von den verschiedenen Bearbeitern auf widersprechende Art beantwortet.

Nach Angaben von JUMELLE (1892), MATTHAEI (1905), HENRICI (1921) und ZACHAROWA (1929) findet CO_2-Abgabe bzw. CO_2-Aufnahme noch bei sehr tiefen Temperaturen, teilweise noch unter —20° und —40° C, statt. Dagegen kommen IWANOFF und KOSSOWITSCH (1929), CARTELLIERI (1936), ÅLVIK (1939), PISEK und SCHIESSL (1939—1946) zu dem Ergebnis, daß um 0° der CO_2-Gaswechsel sehr gehemmt ist, und daß die Temperaturminima für Assimilation und Atmung wenige Grad unter dem Gefrierpunkt zu suchen sind.

Die meisten Arbeiten über Assimilation und Atmung der Pflanzen befassen sich mit der aufgenommenen bzw. abgegebenen CO_2-Menge in einer bestimmten Zeiteinheit und erfordern eine komplizierte Apparatur. Die Bearbeitung unserer Frage setzt aber eine Versuchsmethode voraus, die es erlaubt, noch sehr geringe CO_2-Umsetzungen festzustellen, und die außerdem so einfach ist, daß man an Frosttagen im Gelände mit ihr arbeiten kann. Diesen Forderungen entspricht eine Versuchsanstellung von ÅLVIK (1939)[1]. Sie eignet sich nicht für kurzfristige, quantitative Messungen, ist aber sehr empfindlich. Sie beansprucht keinerlei Apparatur, und man kann mit ihr dem Problem des Stoffgewinnes der Pflanzen speziell im Winter von der Seite der Tagesbilanz aus näherkommen.

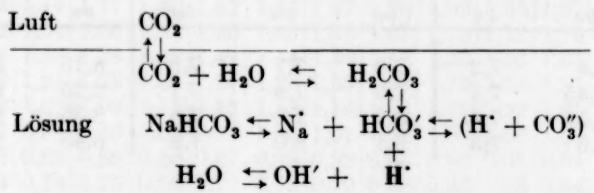
A. Methodik.

Das Prinzip der Methode ist folgendes. Man bringt die Versuchspflanzen in einem Rundkolben dicht über einer geringen Menge stark verdünnter Natriumbikarbonatlösung an, die mit einem Indikator versetzt ist. Bikarbonatlösungen

* Dissertation der Fakultät für Natur- und Geisteswissenschaften der Technischen Hochschule Stuttgart.

[1] Mit der ÅLVIKschen Methode machte schon 1940—1942 H. v. REITZENSTEIN (gefallen 1944) am Botanischen Institut der T. H. Stuttgart Versuche.

haben die Eigenschaft, sich mit der jeweiligen CO_2-Spannung in der über ihnen befindlichen Luft ins Gleichgewicht zu setzen und dabei durch CO_2-Abgabe oder -Aufnahme ihren p_H-Wert zu verändern. Die im Bikarbonat-CO_2-System sich einstellenden chemischen Gleichgewichte können folgendermaßen veranschaulicht werden:



Wird der CO_2-Gehalt der Luft geringer, dann gibt die Lösung CO_2 an die Luft ab. Die Konzentration der H_2CO_3 und ihrer Ionen nimmt also ab. Da $H^{\cdot}$ ververschwinden, werden entsprechend OH' gebildet, und die Lösung wird alkalischer. Daraus folgt, daß jedem CO_2-Druck der Luft eine ganz bestimmte $H^{\cdot}$-Konzentration der mit ihr im Gleichgewicht befindlichen Bikarbonatlösung entspricht.

Der p_H-Wert der $NaHCO_3$-Lösung wurde durch Vergleich mit Pufferlösungen bestimmt. Als Pufferlösung diente das in Tabelle 1 angegebene Borsäure-Borat-Puffergemisch.

Tabelle 1. *Standardpufferlösung für den* p_H*-Bereich von 7,0—9,0.* [Berechnet von H. v. REITZENSTEIN nach PALITZSCH (vgl. CLARK, 1925).] a m/20 Borax (19,108 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ im Liter); b m/5 Borsäure + m/20 NaCl (12,45 g H_3BO_3 + 2,925 g NaCl im Liter).

p_H	a cm³	b cm³	p_H	a cm³	b cm³	p_H	a cm³	b cm³
7,0	0,45	9,55	7,7	1,75	8,25	8,4	4,45	5,55
7,1	0,6	9,4	7,8	2,05	7,95	8,5	4,95	5,05
7,2	0,75	9,25	7,9	2,35	7,65	8,6	5,5	4,5
7,3	0,9	9,1	8,0	2,7	7,3	8,7	6,05	3,95
7,4	1,10	8,9	8,1	3,05	6,95	8,8	6,7	3,3
7,5	1,3	8,7	8,2	3,5	6,5	8,9	7,4	2,6
7,6	1,5	8,5	8,3	3,95	6,05	9,0	8,2	1,8

Diese Mischlösungen, mit 3 Tropfen Kresolrotlösung als Indikator und einigen Körnchen Thymol versetzt, wurden in Reagenzgläser gefüllt und zugeschmolzen. Die Reagenzröhrchen mit den von gelb bis blaurot gefärbten Stammlösungen kamen in einen abgedunkelten, leicht zu transportierenden Behälter.

Da viele Versuche bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt durchgeführt wurden, mußte der Gefrierpunkt der Natriumbikarbonatlösung durch Kochsalzzusatz erniedrigt werden. Dadurch verschob sich der p_H-Wert ins Alkalische. Diese Veränderung wurde experimentell erfaßt. In einen Rezipienten wurden 3 flache Glasgefäße mit Natriumbikarbonatlösung gebracht. Das erste enthielt keinen Kochsalzzusatz, das zweite 12,3% (9,1° Gefrierpunktserniedrigung) und das dritte 17,5% (14, 6° Gefrierpunktserniedrigung). In den Rezipienten wurde zunächst CO_2-freie und dann stufenweise CO_2-haltige Luft eingeleitet. Die durch Vergleich mit den Stammlösungen ermittelten p_H-Werte dieser 3 verschiedenen Lösungen gehen aus Tabelle 2 hervor. Bei den Ablesungen im Winter wurde der gefundene p_H-Wert der kochsalzhaltigen Lösung entsprechend korrigiert.

Tabelle 2. *Verschiebung des p_H-Wertes der $NaHCO_3$-Lösung durch Zusatz von NaCl bei 13,5° C.*

0,001 n $NaHCO_3$-Lösung mit								
17,5 % NaCl	12,3 % NaCl	0 % NaCl	17,5% NaCl	12,3 % NaCl	0 % NaCl	17,5 % NaCl	12,3 % NaCl	0 % NaCl
p_H	p_H	p_H	p_H	p_H	p_H	p_H	p_H	p_H
7,5	7,4	7,2	7,8	7,7	7,6	8,15	8,05	8,0
7,55	7,45	7,3	7,9	7,8	7,7	8,25	8,15	8,1
7,65	7,55	7,4	8,0	7,9	7,8	8,35	8,25	8,2
7,7	7,6	7,5	8,1	8,0	7,9	8,45	8,35	8,3

Die Berechnung der CO_2-Drucke aus den p_H-Werten erfolgte nach einer von KAUKO (1934) und CARLBERG (1936) aufgestellten Formel, die auch ÅLVIK verwendete: $\log P = (a - p_H) : 0{,}94$, wobei P der CO_2-Druck und a eine temperaturabhängige Größe ist.

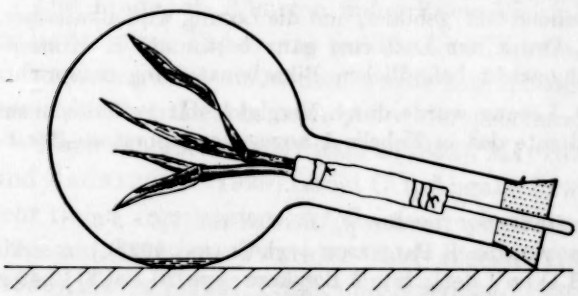


Abb. 1. Assimilationskolben mit Weizenpflanze.

Um die Umrechnung der p_H-Werte in CO_2-Drucke möglichst zu vereinfachen, hatte v. REITZENSTEIN Tabelle 3 (s. S. 503) zusammengestellt. Mit ihrer Hilfe läßt sich die bei der Atmung ausgeschiedene bzw. die bei der Assimilation aufgenommene CO_2-Menge bestimmen.

In 3 cm³ der 0,001 n Natriumbikarbonatlösung sind ursprünglich 0,066 mg CO_2 enthalten. Die Veränderungen der gelösten CO_2-Mengen während der Versuche braucht man bei der Berechnung von Atmung und Assimilation nicht zu berücksichtigen, da sie nicht ins Gewicht fallen.

Ausführung der Versuche. In einen Jenaer Rundkolben von 575 cm³ Inhalt brachten wir 3 cm³ einer 0,001 n Natriumbikarbonatlösung und 2 Tropfen einer 0,2%igen Kresolrotlösung. Dann legten wir die unverschlossenen Kolben ungefähr 8 Std lang im Freien aus, damit sich der CO_2-Gehalt der Lösung mit dem der Luft ins Gleichgewicht setzen konnte. Dies trat je nach der Temperatur bei einem p_H-Wert von 7,9—7,75 ein. Bei einbrechender Dunkelheit machten wir die Kolben versuchsfertig. Wir umwickelten die Versuchszweige oder -blätter an der Schnittfläche mit angefeuchtetem Filtrierpapier, befestigten sie dann an einem Glasstab, steckten diesen durch einen Gummistopfen (Abb. 1) und verschlossen damit vorsichtig den 12—15 cm langen Hals des Kolbens, so daß die Versuchspflanzen in dessen Mitte exponiert waren. Wenn wir ganze Pflanzen für die Versuche verwendeten, wuschen wir die Wurzeln gründlich aus, und umgaben sie ebenso mit feuchtem Filtrierpapier. Die Vermutung, daß bei tiefen Temperaturen vom Filtrierpapier absorbierte Kohlensäure frei würde, und eine Atmung der Pflanzen vortäuschen könnte, wurde durch Kontrollversuche widerlegt. An extrem kalten Tagen konnten wir wegen des Bodenfrostes oft nur die Sprosse der Pflanzen berücksichtigen, und setzten bei Außentemperaturen von — 3° bis —15° C die Versuche nicht wie üblich im Freien an, sondern in einem Raum von 0° bis +2° C. Es ist aber nicht anzunehmen, daß innerhalb der kurzen Zeit von 1—2 min die gefrorenen Sprosse auftauten.

Tabelle 3. *Abhängigkeit des CO_2-Gehaltes einer 0,001 n $NaHCO_3$-Lösung von der Temperatur und vom p_H-Wert (mg CO_2 je Liter).*

p_H \ t	−12°	−11°	−10°	−9°	−8°	−7°	−6°	−5°	−4°	−3°	−2°	−1°	0°	1°	2°	3°	4°
7,2	2,12	2,15	2,19	2,22	2,25	2,28	2,31	2,34	2,37	2,40	2,44	2,48	2,51	2,55	2,58	2,62	2,66
7,25	1,88	1,92	1,94	1,97	2,00	2,02	2,05	2,07	2,10	2,13	2,15	2,19	2,23	2,26	2,28	2,31	2,33
7,3	1,67	1,69	1,72	1,74	1,77	1,80	1,82	1,84	1,87	1,90	1,92	1,95	1,97	2,00	2,02	2,04	2,08
7,35	1,48	1,50	1,52	1,54	1,56	1,58	1,60	1,63	1,65	1,67	1,70	1,72	1,74	1,76	1,78	1,81	1,83
7,4	1,30	1,32	1,34	1,36	1,38	1,40	1,42	1,44	1,46	1,48	1,50	1,52	1,55	1,57	1,59	1,61	1,63
7,45	1,16	1,18	1,20	1,21	1,23	1,25	1,27	1,28	1,30	1,32	1,33	1,35	1,37	1,38	1,40	1,42	1,44
7,5	1,02	1,03	1,05	1,07	1,09	1,11	1,12	1,13	1,14	1,16	1,18	1,20	1,21	1,22	1,24	1,26	1,27
7,55	0,90	0,92	0,93	0,94	0,96	0,97	0,99	1,00	1,01	1,03	1,04	1,06	1,08	1,09	1,10	1,12	1,13
7,6	0,80	0,81	0,82	0,83	0,85	0,86	0,87	0,88	0,89	0,90	0,92	0,93	0,94	0,96	0,97	0,98	0,99
7,65	0,71	0,72	0,73	0,74	0,75	0,76	0,77	0,78	0,79	0,80	0,82	0,83	0,84	0,85	0,86	0,87	0,88
7,7	0,62	0,63	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68	0,69	0,70	0,71	0,72	0,73	0,74	0,75	0,76	0,77	0,78
7,75	0,55	0,56	0,57	0,58	0,59	0,59	0,60	0,61	0,62	0,63	0,64	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68	0,69
7,8	0,49	0,49	0,50	0,51	0,52	0,52	0,53	0,54	0,55	0,55	0,56	0,57	0,58	0,59	0,59	0,60	0,61
7,85	0,43	0,44	0,45	0,46	0,46	0,47	0,47	0,48	0,48	0,49	0,50	0,50	0,51	0,52	0,52	0,53	0,53
7,9	0,38	0,39	0,39	0,40	0,41	0,41	0,42	0,42	0,43	0,43	0,44	0,45	0,45	0,46	0,47	0,47	0,48
7,95	0,34	0,34	0,35	0,35	0,36	0,36	0,37	0,37	0,38	0,38	0,39	0,39	0,40	0,40	0,41	0,41	0,42
8,0	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32	0,32	0,33	0,33	0,34	0,34	0,35	0,35	0,36	0,36	0,37	0,37
8,05	0,26	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,29	0,29	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32	0,32	0,33
8,1	0,23	0,24	0,24	0,24	0,25	0,25	0,25	0,26	0,26	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,28	0,29	0,29
8,15	0,20	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,25	0,25	0,25	0,25	0,26
8,2	0,18	0,18	0,19	0,19	0,19	0,20	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,22	0,23
8,25	0,16	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18	0,18	0,18	0,19	0,19	0,19	0,19	0,20	0,20	0,20
8,3	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18
8,35	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16
8,4	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,14
8,45	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
8,5	0,09	0,09	0 09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,11	0,11	0,11	0,11

p_H \ t	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	15°	16°	17°	18°	19°	20°
7,2	2,69	2,73	2,77	2,80	2,84	2,89	2,93	2,97	3,01	3,05	3,09	3,13	3,17	3,22	3,28	3,33
7,25	2,38	2,42	2,46	2,50	2,53	2,56	2,60	2,63	2,68	2,70	2,73	2,75	2,80	2,85	2,90	2,95
7,3	2,11	2,14	2,17	2,20	2,23	2,27	2,30	2,33	2,37	2,40	2,43	2,46	2,49	2,52	2,55	2,60
7,35	1,86	1,89	1,92	1,95	1,98	2,01	2,04	2,07	2,10	2,12	2,15	2,18	2,20	2,23	2,27	2,31
7,4	1,65	1,68	1,70	1,73	1,75	1,78	1,80	1,83	1,86	1,88	1,90	1,92	1,95	1,98	2,02	2,05
7,45	1,46	1,48	1,50	1,53	1,55	1,58	1,60	1,62	1,65	1,67	1,69	1,71	1,73	1,75	1,78	1,81
7,5	1,29	1,31	1,33	1,35	1,37	1,40	1,42	1,44	1,46	1,48	1,50	1,52	1,54	1,56	1,58	1,60
7,55	1,14	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,25	1,27	1,28	1,30	1,32	1,33	1,35	1,37	1,40	1,42
7,6	1,01	1,03	1,04	1,06	1,08	1,10	1,12	1,13	1,14	1,16	1,17	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26
7,65	0,89	0,91	0,92	0,94	0,95	0,96	0,98	0,99	1,00	1,02	1,03	1,05	1,06	1,08	1,10	1,12
7,7	0,79	0,80	0,81	0,82	0,84	0,85	0,86	0,88	0,89	0,90	0,91	0,92	0,94	0,95	0,97	0,98
7,75	0,70	0,71	0,72	0,73	0,74	0,75	0,76	0,77	0,79	0,80	0,81	0,82	0,83	0,84	0,86	0,87
7,8	0,61	0,62	0,63	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68	0,69	0,70	0,71	0,72	0,73	0,75	0,76	0,77
7,85	0,54	0,55	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,60	0,61	0,62	0,63	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68
7,9	0,48	0,49	0,49	0,50	0,51	0,52	0,53	0,53	0,54	0,55	0,56	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60
7,95	0,42	0,43	0,44	0,44	0,45	0,46	0,47	0,48	0,48	0,49	0,50	0,51	0,51	0,52	0,52	0,53
8,0	0,38	0,38	0,39	0,39	0,40	0,41	0,41	0,42	0,43	0,43	0,44	0,44	0,45	0,45	0,46	0,46
8,05	0,33	0,34	0,34	0,35	0,35	0,36	0,36	0,37	0,37	0,37	0,38	0,38	0,39	0,39	0,40	0,40
8,1	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32	0,33	0,34	0,34	0,35	0,35	0,36	0,36	0,37	0,37
8,15	0,26	0,26	0,27	0,27	0,28	0,28	0,29	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32	0,33	0,33
8,2	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,25	0,25	0,26	0,26	0,26	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,29
8,25	0,20	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,25	0,25	0,25
8,3	0,18	0,18	0,19	0,19	0,19	0,20	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22
8,35	0,16	0,16	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18	0,18	0,19	0,19	0,19	0,19	0,20	0,20
8,4	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17	0,18
8,45	0,13	0,13	0 13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
8,5	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0 12	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,14	0,14

Der abends vor Versuchsbeginn festgestellte p_H-Wert der Natriumbikarbonatlösung entsprach dem CO_2-Druck der Außenluft (etwa 0,57 mg je Liter). Den durch die nächtliche Atmung der Versuchspflanzen vermehrten CO_2-Druck im Kolben stellte man bei der ersten Ablesung nach Sonnenaufgang fest[1]. Danach nahm der CO_2-Gehalt durch die einsetzende Assimilation ab, was wir durch stündliches Ablesen verfolgten. Den Zeitpunkt, an dem die CO_2-Konzentration des Versuchsbeginns am Vorabend erreicht war, nannten wir Tageskompensationspunkt (TKP), d. h. zu dieser Zeit hat die Assimilation den CO_2-Verlust der Atmung kompensiert. Unter Assimilation verstehen wir stets die apparente Assimilation und unter Atmung die Dunkelatmung[2].

Der TKP wurde auf Grund der in mg CO_2 umgerechneten p_H-Werte bestimmt, denn der p_H-Wert entspricht bei verschiedener Temperatur nicht demselben CO_2-Druck. Dies hatten ÅLVIK und v. REITZENSTEIN nicht berücksichtigt, sie bestimmten den TKP nach dem p_H-Wert.

Tabelle 4. *Tagesbilanzversuch mit Winterweizen am 24./25. 2. 1948.*

Tag	Stunde	Temperatur im Kolben °C	p_H	mg CO_2 im Kolben	
24. 2. 48	18^{30}	—4,0	7,8	0,32	Atmung
25. 2. 48	8^{00}	—6,0	7,7	0,40	
	10^{00}	0,0	7,7	0,43	
	11^{00}	2,5	7,75	0,40	Assimilation
	12^{00}	4,0	7,8	0,36	
	14^{00}	3,5	7,95	0,24	
	15^{30}	0,5	8,05	0,18	

Bei dem in Tabelle 4 beschriebenen Versuch wurde der TKP nicht um 12 Uhr erreicht, wie es auf Grund eines Vergleiches der p_H-Werte 7,8 der Fall sein müßte, sondern um 12^{40} Uhr. Erst um diese Zeit herrschte im Assimilationskolben derselbe CO_2-Druck von 0,32 mg CO_2 wie zu Beginn der Atmung. Andererseits entsprachen p_H 7,7 um 8 Uhr bei einer Temperatur von — 6° und p_H 7,75 um 11 Uhr bei +2,5° C demselben CO_2-Druck im Rundkolben.

Gleichzeitig mit den p_H-Werten bestimmten wir auch die Helligkeit und die Temperatur. Die *Lufttemperatur* maßen wir mit einem 1—2 min lang durch die Luft geschleuderten Quecksilberthermometer. Die Temperatur im Assimilationskolben wurde ebenfalls mit einem Quecksilberthermometer abgelesen. Die täglichen Temperaturamplituden auf Abb. 2—9 wurden nach Werten der Meteorologischen Station Hohenheim dargestellt, die 400 m vom Versuchsort entfernt lag.

Die *Helligkeit* konnte leider nicht durch Tageslichtsummen bestimmt werden. Mit der Selen-Photozelle nach LANGE nahmen wir Momentan-Lichtmessungen vor, die aber über den wirklichen Lichtgenuß der Pflanzen wenig aussagen. Die mittlere

[1] Der Vergleich des Farbtons der Lösung im Kolben mit den Standard-Pufferlösungen in Reagensgläsern gelingt bei genügender Übung mit einer Genauigkeit von $p_H = 0{,}05$.

[2] Im Gegensatz zu unserem TKP wurde der Kompensationspunkt von HARDER (1923) als der Punkt festgelegt, bei dem die reelle Assimilation die gleichzeitige Lichtatmung kompensiert, so daß der Gaswechsel gleich 0 ist.

Helligkeit während der Versuchsdauer schätzten wir daher unter Verwendung dieser Messungen nach einer 5-stufigen Skala.

Stufe 1 sehr schwache Helligkeit	z. B. Nebel;
Stufe 2 schwache Helligkeit	z. B. starke Bewölkung;
Stufe 3 mäßige bis starke Helligkeit	z. B. Himmel wechselnd bewölkt;
Stufe 4 starke Helligkeit	z. B. vorwiegend heiter;
Stufe 5 außergewöhnlich starke Helligkeit	z. B. klarer Himmel und Schnee, bzw. blauer Himmel und einzelne große Wolken.

Um die Helligkeit unter Schnee ermitteln zu können, brachten wir auf die Mattscheibe des Meßapparates in einem Glaszylinder eine Schneelage in natürlicher Packung, die der Schneehöhe entsprach, unter der die Assimilationskolben lagen.

Assimilationsintensität (AI) und *Atmungs*(= Respirations)*intensität* (RI) bestimmten wir durch die aufgenommene bzw. abgegebene CO_2-Menge in Milligramm bezogen auf 1 g des Gesamttrockengewichts der Pflanzen und auf die Stunde. Bei den Winterannuellen setzte sich das Gesamttrockengewicht aus Wurzel und Sproß zusammen. Bei *Picea excelsa* und *Prunus laurocerasus* errechneten wir es aus den Assimilationsorganen einschließlich des Holzes. Die Pflanzenteile trockneten wir im Thermostaten bei 105° bis zur Gewichtskonstanz. Der RI lag die Zeit vom Beginn des Versuches am Abend bis zum ersten Ablesen am Morgen zugrunde, und der AI die Stunden zwischen dem ersten Ablesen und dem TKP. AI und RI geben also nur Durchschnittswerte an.

Den *Stoffgewinn*, das ist der prozentuale tägliche Trockengewichtszuwachs von Wurzel und Sproß, konnten wir nur bei den Winterannuellen feststellen. Mit Ausnahme der Kälteperioden machten wir die Bestimmungen alle 8 Tage. Als Testpflanzen konnten wir zu Beginn der Vegetationszeit 30—50 mittlere Pflanzen verarbeiten, doch als die Pflanzen heranwuchsen, mußten wir die Zahl auf 12—20 beschränken.

Die *Blattflächen*-Größe zur Ermittlung der *Assimilationsleistung* (AL) bestimmten wir durch Lichtpausen auf Ozalidpapier, Ausschneiden und Wägen. Unter AL versteht man nach WALTER (1948) die Trockengewichtszunahme in g/m² Blattfläche und Tag.

Methodische Fehlerquellen. Bei den Trockengewichtsbestimmungen erwies es sich als sehr schwierig, aus einem Bestand exakt die mittleren Pflanzen herauszufinden, vollends wenn wir die Zahl bei größeren Versuchspflanzen aus arbeitstechnischen Gründen herabsetzen mußten. Wir bestimmten die mittleren Pflanzen durch Längenmessungen. Lag nun der gemessene Durchschnitt zu niedrig, so war der folgende Zuwachs zu hoch. Diese Unstimmigkeit muß bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse manchmal in Betracht gezogen werden.

In dem Assimilationskolben bleibt die CO_2-Konzentration nicht konstant. Morgens ist der CO_2-Gehalt der Luft im Kolben höher als derjenige der Außenluft und sinkt im Laufe des Tages ab. Aus Versuchen von MÖNCH (1937), LUNDEGÅRDH (1924), ÅLVIK (1939), TJEBBES und UPHOF (1921) und aus eigenen Versuchen geht hervor, daß erhöhter CO_2-Gehalt wohl bei Temperaturen über 10° die Assimilation fördert, aber nicht bei tiefer liegenden Temperaturen. Deshalb dürfte eine CO_2-Anreicherung für Assimilationsversuche bei tiefen Temperaturen nur eine unwesentliche Fehlerquelle sein.

Zwischen Außentemperatur und Temperatur im Assimilationskolben konnten beträchtliche Unterschiede auftreten (Tabelle 6), obwohl wir die Rundkolben nie dem direkten Sonnenlicht aussetzten. Die Versuchsbedingungen entsprachen dann nicht den natürlichen Verhältnissen. Ein eigentlicher Fehler entstand jedoch

dadurch nicht, da den Berechnungen des CO_2-Umsatzes die Temperatur im Assimilationskolben zugrunde lag.

Die Luftbewegung, die am natürlichen Standort stets herrscht, ist im Rundkolben ausgeschaltet, und könnte nach DENEKE (1931) zu Versuchsfehlern führen. Die für unsere Versuche wichtigen kalten Wintertage zeichneten sich aber meist durch Windstille aus.

Eine weitere methodische Fehlerquelle könnte in der Verwendung von abgeschnittenen Blättern und Zweigen liegen. Gleichzeitige Versuche mit abgeschnittenen und am Baum belassenen Zweigen von *Picea excelsa* und Blättern von *Prunus laurocerasus* zeigten jedoch nur ganz geringe Unterschiede. Wir dürfen deshalb mit BOYSEN JENSEN und MÜLLER (1929), LARSEN (1942), BAUER (1935) und STOCKER (1935) annehmen, daß abgeschnittene Blätter ökologisch richtige Assimilationswerte ergeben, vorausgesetzt, daß dem Blattstiel während der Versuche kein Wasser zugeführt wird, und daß man starke Transpiration vermeidet.

Trotz all der genannten Schwierigkeiten bewährte sich die ÅLVIKsche Feldmethode bei unseren Untersuchungen des CO_2-Austausches im Winter sehr gut. Ihr großer Vorteil liegt darin, daß man mit ihr einwandfrei geringe CO_2-Mengen feststellen kann, die bei Tag innerhalb von mehreren Stunden aufgenommen oder während einer Nacht ausgeschieden werden. Die sonst üblichen Methoden mit kurzfristigen Messungen versagen im Winter, da der CO_2-Umsatz zu gering ist. Allerdings vermag man bei Anwendung der p_H-Methode die Temperaturen, bei denen Assimilation und Atmung stattfanden, nur innerhalb gewisser Grenzen anzugeben. Der Fehler der Methode betrug bis zu 10%.

Bei der Artenwahl gingen wir von dem Gedanken aus, daß auch der Praktiker an dem Problem des Stoffgewinns der Pflanzen im Winter interessiert sei, und wählten deshalb von der Gruppe der krautigen, wintergrünen Arten 4 wichtige Kulturpflanzen aus: Winterweizen (*Triticum vulgare*, Langs Trubilo), Bergwintergerste (*Hordeum vulgare*, Friedrichswerth), Winterspinat (*Spinacia oleracea*, Nobel) und Ackersalat (*Valerianella olitoria*, Holländischer). Das Saatgut der Getreidearten (reine Linien) stammte vom Institut für Pflanzenbau der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim, das von Ackersalat (reine Linie) und Spinat (keine reine Linie) von der Gartenbauschule Hohenheim. Die 4 Arten zogen wir im Freiland und im Frühbeet heran.

Vergleichsweise untersuchten wir aus der Gruppe der Nadelhölzer die in Nordeurasien beheimatete *Picea excelsa* und aus der Gruppe der wintergrünen Laubhölzer den nicht sehr winterharten, immergrünen *Prunus laurocerasus*. Zweige und Blätter für die Versuche stammten von derselben Exposition und Höhe am Strauch.

B. Versuchsergebnisse.

Die Untersuchungen machten wir in dem außerordentlich strengen Winter 1946/47, der mit 3 Kälteperioden und 45 Wintertagen für uns sehr günstig war. Wir wiederholten sie im Winter 1947/48. Dieser

Winter war mit nur 12 Wintertagen wesentlich milder (vgl. Temperaturamplituden auf Abb. 2 und 3). Der vorausgegangene Herbst war sehr niederschlagsarm und reich an sonnigen Tagen.

Aus Raummangel können hier nicht alle Einzelmessungen ausführlich besprochen werden, die in den Abb. 2—9 jeweils zusammengefaßt sind. Das Prinzip der Darstellung sei am Beispiel des Winterweizens näher erläutert. Bei den übrigen Versuchsobjekten weisen wir nur auf kennzeichnende Abweichungen vom Verhalten des Winterweizens hin.

1. Versuche mit Winterweizen.

Die Beziehungen, die zwischen Assimilationsintensität (AI), Atmungsintensität (RI), Tageskompensationszeit und Stoffgewinn beim Winterweizen bestehen, wollen wir im folgenden an Abb. 2 erklären. AI und RI nehmen zu Beginn des Winters ab, haben im Januar und Februar sehr niedrige oder Null-Werte und werden im März rasch größer. Ganz ähnlich verhält sich die prozentuale tägliche Trockengewichtszunahme. Sie ist im November noch groß, dann ruht sie beinahe ganz, nimmt im Februar zuerst langsam und ab Mitte März rasch zu. Die Lage des Tageskompensationspunktes (TKP) verschiebt sich in umgekehrter Richtung, d. h. die Zeit bis zur Erreichung des TKP nimmt im Winter immer mehr zu und wird im Laufe des Frühjahrs wieder geringer. Vergleicht man mit diesen Kurven die Darstellung der täglichen Temperaturamplituden im Freien, so wird der Einfluß der Temperatur deutlich. Für uns war das Verhalten der Pflanzen während der Kälteeinbrüche von besonderem Interesse[1].

Über die Stoffzunahme der Pflanzen vom Beginn der Keimung am 20. Oktober bis Ende November gibt die Kurve der prozentualen, täglichen Trockengewichtszunahme auf Abb. 2 Aufschluß. Das Trockengewicht setzte sich aus Wurzel und Sproß, einschließlich Endosperm und Fruchtschale zusammen. Von der Keimung bis zum 6. 11. 46. nahm dieses Gesamttrockengewicht ab. Die Zahlen in Tabelle 5 erklären uns, daß in dieser Zeit der Keimling auf Kosten des Endosperms lebte. Während der beiden ersten Tage vom 20.—22. 10. 46 verbrauchte die junge Pflanze schon 45% des Endosperms und in den folgenden 2 Wochen den Rest. Vom 6. 11. 46. an begannen die Pflanzen mit der autotrophen Ernährungsweise. Ende November war der Stoffgewinn sehr stark, es herrschten heitere Tage, und die Pflanzen begannen mit der Bestockung. Bei dem hohen Wert könnte allerdings der auf S. 505 erwähnte Versuchsfehler mitsprechen.

Nach den ersten Frühfrösten am 26. und 27. 10. 46 wurde am 29. 10. 46 mit den Assimilationsversuchen begonnen. Im Kolben

[1] In der zweiten Kältezeit Anfang Januar fielen die Versuche aus technischen Gründen aus.

assimilierten und atmeten die 4—5 cm langen ersten Blätter von jeweils 5 Pflanzen. Die RI war sehr groß (Abb. 2), die AI verältnismäßig gering. Die Zeit bis zum TKP erscheint lang, war aber erforderlich, um die starke Dunkelrespiration zu kompensieren. Ähnlich lagen die Verhältnisse bei dem Versuch am 6. 11. 46[1].

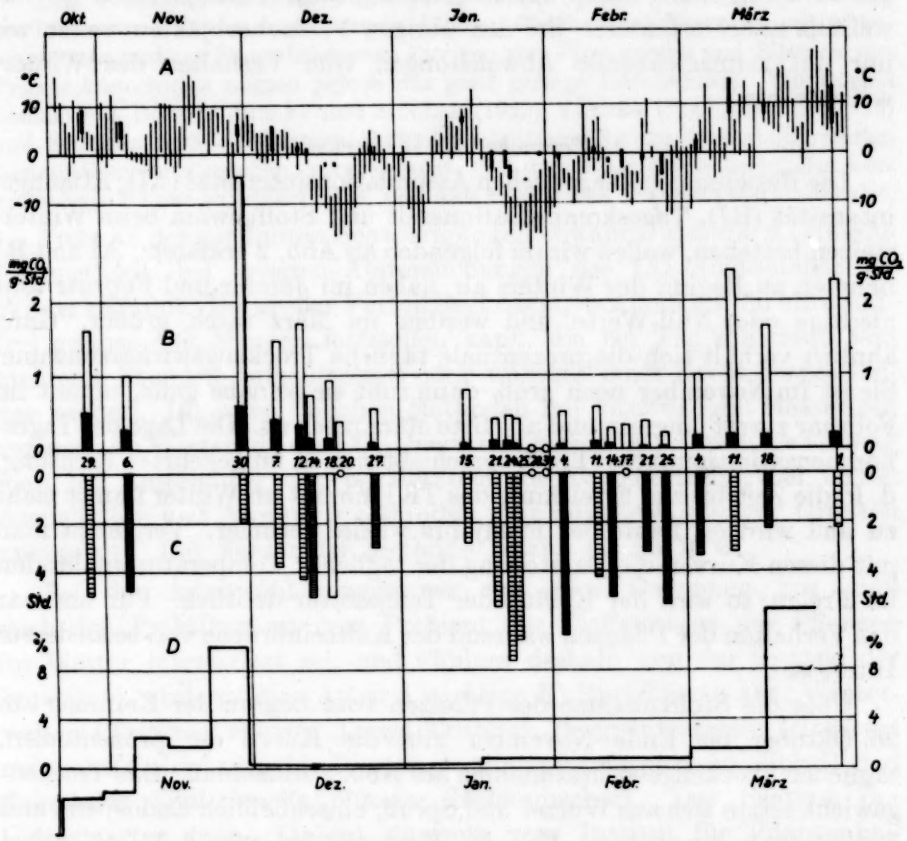


Abb. 2. Versuche mit Winterweizen im Winter 1946/47. *A* Temperaturamplitude im Freien, dünne Linie. Temperaturamplitude während der Assimilation im Kolben, dicke Linie. Temperaturamplitude im Kolben, wenn keine Assimilation stattfand, gestrichelte dicke Linie. *B* Assimilationsintensität (AI), weiße Säulen. Atmungsintensität (RI), schwarze Säulen. *C* Tages-Kompensations-Zeit (die 0-Linie bedeutet den Zeitpunkt des Sonnenaufgangs nach MOZ) und Helligkeit während der Assimilation bis zum Tageskompensationspunkt (TKP). Vgl. S. 505: Helligkeitsstufe 1, Kreuzschraffur. Helligkeitsstufe 2, enge Schraffur. Helligkeitsstufe 3, weite Schraffur. Helligkeitsstufe 4, sehr weite Schraffur. Helligkeitsstufe 5, ohne Schraffur. *D* Prozentuale tägliche Trockengewichtszunahme (Stoffgewinn).

[1] Die beiden Versuche lagen in dem Zeitabschnitt, in dem die meisten Pflanzen sich noch auf Kosten des Endosperms ernährten. Die CO_2-Bilanz müßte also, genau wie die prozentuale tägliche Trockengewichtszunahme in dieser Zeit, negativ sein, d. h. die RI müßte größer sein als die AI. Dies trat nicht ein. Allerdings war die CO_2-Bilanz wesentlich ungünstiger als bei den Versuchen Anfang Dezember. Vermutlich hatten die zur Assimilation verwendeten Pflanzen schon mit der autotrophen Ernährungsweise begonnen.

Tabelle 5. *Trockengewichte der einzelnen Pflanzenteile von Winterweizen während der Keimung, in Gramm auf 100 Pflanzen berechnet.*

Zeit	a Wurzel und Sproß	b Fruchtschale und Endosperm	a + b zusammen	Änderung je Tag
20. 10. 46 (Keimung)	—	3,27	3,27	
				−0,18
22. 10. 46	0,90	2,01	2,91	
				−0,075
30. 10. 46	1,46	0,87	2,33	
				−0,043
6. 11. 46	1,55	0,48	2,03	
				+0,05
13. 11. 46	1,95	0,45	2,38	

Rege Lebenstätigkeit der Pflanzen zeigte auch der Bilanzversuch vom 30. 11. 46 (Abb. 2). Hier war die AI der Weizenpflanzen trotz vorangegangener Frostnächte noch sehr groß, und die TK wurde in 2 Std erreicht. Im Dezember wurden AI und RI entsprechend den abnehmenden Temperaturen geringer. Da die Einschränkung der Atmung relativ größer war als die der Assimilation, nahm die TK-Zeit nicht wesentlich zu.

Der 14. 12. 46 war der erste Wintertag. Trotzdem wurde der TKP um 13 Uhr erreicht. In der ersten Kälteperiode konnten wir am 18. und 20. 12. 46 für die Versuche nur die Sprosse verwenden, da der Boden im Frühbeet gefroren war. Am 17./18. 12. 46 fand nachts zwischen −6° und −12° C eine deutliche CO_2-Abgabe statt. In der Nacht vom 19./20. 12. 46 konnte man zwischen −10° und −16° bei Weizen und auch den anderen Versuchsarten keine Atmung nachweisen. Am Tage erreichte die Temperatur am 18. 12. 46 bei strahlend sonniger Witterung im Freien maximal −6° C, bzw. am 20. 12. 46 −8° C. In den Versuchskolben stieg die Temperatur jedoch an beiden Tagen auf −2° C an. Sobald diese Temperaturgrade erreicht waren, setzte in beiden Fällen apparente Assimilation ein. Am 20. 12. 46, als die Kälteperiode schon mehrere Tage andauerte, war die AI sehr gering. Da aber Wintergerste unter denselben Versuchsbedingungen noch eine stärkere AI aufwies, kann auch für Weizen die Assimilation zwischen −2° und −6° als gesichert gelten.

Die am 20. 12. 46 benutzten Pflanzen standen am 21. 12. 46 noch einen Tag lang bei +8° C im warmen Raum. Die Versuche im warmen Raum sind auf den Abbildungen nicht dargestellt. Diese Kontrolle ergab, daß die Assimilation weiterging und die Pflanzen keinen Kälteschaden davongetragen hatten, obwohl sie Temperaturen bis zu −16,5° ausgesetzt waren.

Wenn man die Darstellung von AI und RI weiter verfolgt, überraschen die beiden trotz günstiger Temperaturen niedrigen Atmungswerte vom 27. 12. 46 und 15. 1. 47. Beide Versuche fanden jeweils in

den milden Zeiten zwischen 2 Kälteeinbrüchen statt. Da die RI gering blieb, konnte der TKP früh erreicht werden. Trotzdem dürfen wir in diesen kurzen Wintertagen, an denen Temperatur und Belichtung bereits in den frühen Nachmittagsstunden abnahmen, nur mit einem unerheblichen Stoffgewinn rechnen. Abb. 2 verzeichnet in jener Zeit auch nur eine äußerst geringe prozentuale tägliche Trockengewichtszunahme, deren Wert noch innerhalb der Fehlergrenze lag.

Bei den 5 Versuchen in der 3. Kälteperiode vom 21.—31. 1. 47 fiel am 24. 1. 47 Schnee, der bis zum 25. 2. 47 liegen blieb. Die Helligkeit war an fast allen Versuchstagen optimal, sogar unter Schnee wurde noch eine mittelmäßige Lichtstärke gemessen. Mit fallenden Temperaturen erhöhte sich die Zeit bis zum TKP, die nun erst am Nachmittag kurz vor Eintritt der Dunkelheit erreicht wurde. Die 3 ersten Versuche der Gruppe wiesen sehr geringe, dennoch deutlich meßbare Atmung und Assimilation und positive CO_2-Bilanz auf. Nach weiteren extrem kalten Tagen ruhte am 28. 1. 47 und 31. 1. 47 anscheinend der gesamte CO_2-Gaswechsel.

Der Versuch am 25. 1. 47, einem der kältesten Tage des Winters 1946/47, an dem wir noch CO_2-Austausch erfaßten, ist in Tabelle 6 dargestellt. Die Pflanzen atmeten bei Temperaturen von mindestens -7^0 und assimilierten bei Temperaturen zwischen -3^0 und $-5{,}5^0$ in der Zeit von 12—15 Uhr, nicht dagegen in den früheren Stunden bei -7^0.

Am 28. 1. 47, an dem die Temperatur im Kolben nachts nicht über -11^0 und tags nicht über -5^0 anstieg, ruhte der Gasaustausch ganz. Und am 31. 1. 47, nach 6 Tagen größter Kälte, waren die Pflanzen derart inaktiviert, daß sie trotz Helligkeitsstufe 3 unter Schnee und 0^0 C im Assimilationskolben anscheinend nicht assimilierten, und nachts bei einem Temperaturmaximum von -8^0 C im Kolben nicht meßbar atmeten.

Am 31. 1. 47 stellten wir neben den Versuchen am natürlichen Standort auch eine Versuchsreihe im warmen Zimmer auf. Die Pflanzen wurden stufenweise

Tabelle 6. *Tagesbilanzversuch mit Winterweizen am 24./25. 1. 47, 6 cm unter Schnee.*

Tag	Stunde	Temperatur im Kolben ° C	Temperatur im Freien ° C	Helligkeitsstufe	mg CO_2 im Kolben
24. 1. 47	17^{00}	—8,0	— 8,0	—	0,27
25. 1. 47	8^{30}	—7,0	—12,5[1]	2	0,39
	10^{00}	—7,0	—11,5	3	0,39
	12^{00}	—3,0	— 7,0	3	0,40
	15^{00}	—5,5	— 8,0	2	0,28

[1] Temperaturminimum —16,5° C.

und langsam an die höheren Temperaturen gewöhnt, die nachts +15° und tags +20° betrugen. P I (0,26 mg CO_2/g·h) und AI (1,02 mg CO_2/g·h) waren wohl größer als bei den Versuchen vom 21.—25. 1. 47 im Freien, aber die abgehärteten Pflanzen erreichten die Intensitäten, speziell die Assimilationsintensität, wärmerer Jahreszeiten mit denselben Temperaturen nicht.

Die Versuche im Februar und März zeigen keine weiteren Besonderheiten. Am 16./17. 2. 47 war nachts bei —5° bis —7° keine Atmung festzustellen. Der Stoffgewinn war vom 17. 1. bis 28. 2. 47. deutlich meßbar und hatte in der 2. Märzhälfte die Werte vom Herbst bereits überstiegen.

In dem milden Winter 1947/48, in dem erst im Februar eine kurze Kälteperiode eintrat, lag das Schwergewicht der Arbeit auf den Untersuchungen des Stoffgewinns und der Assimilationsleistung (AL), die im ersten Jahr noch nicht erfaßt wurde. Dank der günstigen Verhältnisse sank der Stoffgewinn während der Wintermonate nie unter 1% und lag im Mittel meist bei 2% und darüber. Die AL wies im Oktober den normalen von Walter (1948) und Heath und Gregory (1938) festgestellten Wert auf (Tabelle 7), sank aber, als die Temperatur abnahm, ganz wesentlich. Im März war die AL, verglichen mit den günstigen Temperaturverhältnissen, sehr niedrig. Aber die Pflanzen standen im Frühbeet außerordentlich dicht, so daß der Zuwachs an Trockensubstanz gehemmt war.

Tabelle 7. *Assimilationsleistung (AL) von Winterweizen aus dem Frühbeet im Winter 1947/48.*

	Datum									
	8. 10.	14. 10.	21. 10.	4. 11.	12. 11.	15. 1.	28. 1.	6. 2.	13. 2.	3. 3.	13. 3.
Zahl der Tage	6	7	14	8	64	13	9	7	18	9	
AL g/m² · d	6,2	7,0	3,5	1,9	0,6	0,5	1,0	1,9	0,7	2,5	

Die CO_2-Bilanzversuche, die in der Kälteperiode im Februar 1948 durchgeführt wurden, brachten die gleichen Ergebnisse wie im Winter 1946/47.

2. Versuche mit Wintergerste.

Die Versuche über CO_2-Bilanz und Stoffgewinn bei Wintergerste stimmten mit denen von Winterweizen überein. Nur am 31. 1. 47, in der 3. Kälteperiode, zeigte Wintergerste eine geringe Atmung bei einem Temperaturmaximum von —7,5° und assimilierte noch zwischen —4,5° und 0°, während Winterweizen an diesem extrem kalten Tag keinen Gasaustausch aufwies.

3. Versuche mit Winterspinat.

Auch Winterspinat, die 3. Versuchsart aus der Gruppe der wintergrünen, krautigen Pflanzen, zeigte keine grundsätzlichen Abweichungen

vom Verhalten des Winterweizens. Das Verhältnis AI zu RI war oft noch günstiger, so daß Spinat in vielen Versuchen die TK in kürzerer Zeit erreichte (Abb. 3). Tiefen Temperaturen gegenüber war Winterspinat weniger widerstandsfähig. Bei einem Temperaturminimum von —16,5° erfroren am 20. 12. 46 die Pflanzen im Rundkolben. Das

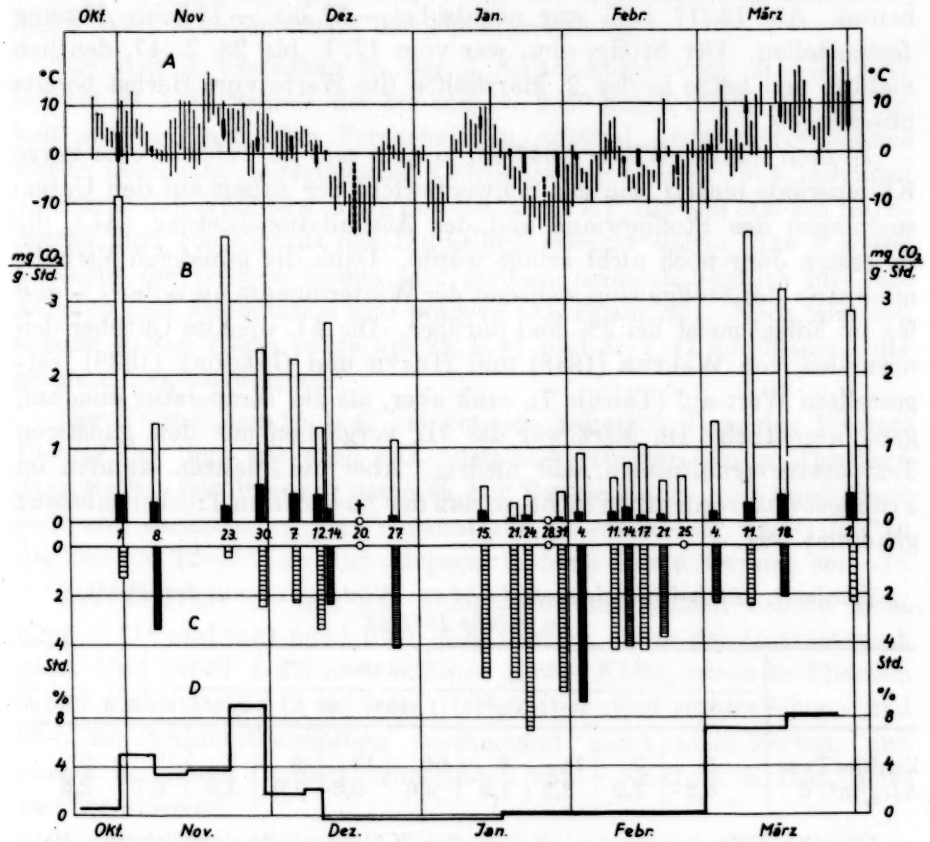


Abb. 3. Versuche mit Winterspinat im Winter 1946/47 (Erl. vgl. Abb. 2, S. 508).

Temperaturminimum der Assimilation lag bei Winterspinat zwischen —2° und —6° C und das Temperaturminimum der Atmung bei —7,5°.

Bei Winterspinat nahm Ende Oktober (Keimung am 20. 10. 46) das Gesamttrockengewicht sofort zu. Der Nährstoffvorrat des Perisperms der Spinatsamen ist äußerst gering und wurde vermutlich schon vor dem 22. 10. 46, als wir mit den Messungen begannen, verbraucht. In den Kälteperioden kam die geringe Frostresistenz von Winterspinat deutlich zum Ausdruck. Die sukkulenten Kotyledonen erfroren größtenteils. Dies führte zu einer Abnahme des Gesamttrockengewichts. Ende Januar und im Februar ruhte der Stoffzuwachs, und Anfang März stieg er sprunghaft an.

Im Winter 1947/48 war der Vergleich des Stoffgewinns von Spinatpflanzen im Frühbeet und im Freiland sehr interessant (Abb. 4). Die Pflanzen im offenen Frühbeet wurden gegossen, die Freilandpflanzen dagegen erhielten nach einem sehr niederschlagsarmen Sommer und Herbst stärkeren Regen erst im November. Zu Beginn der

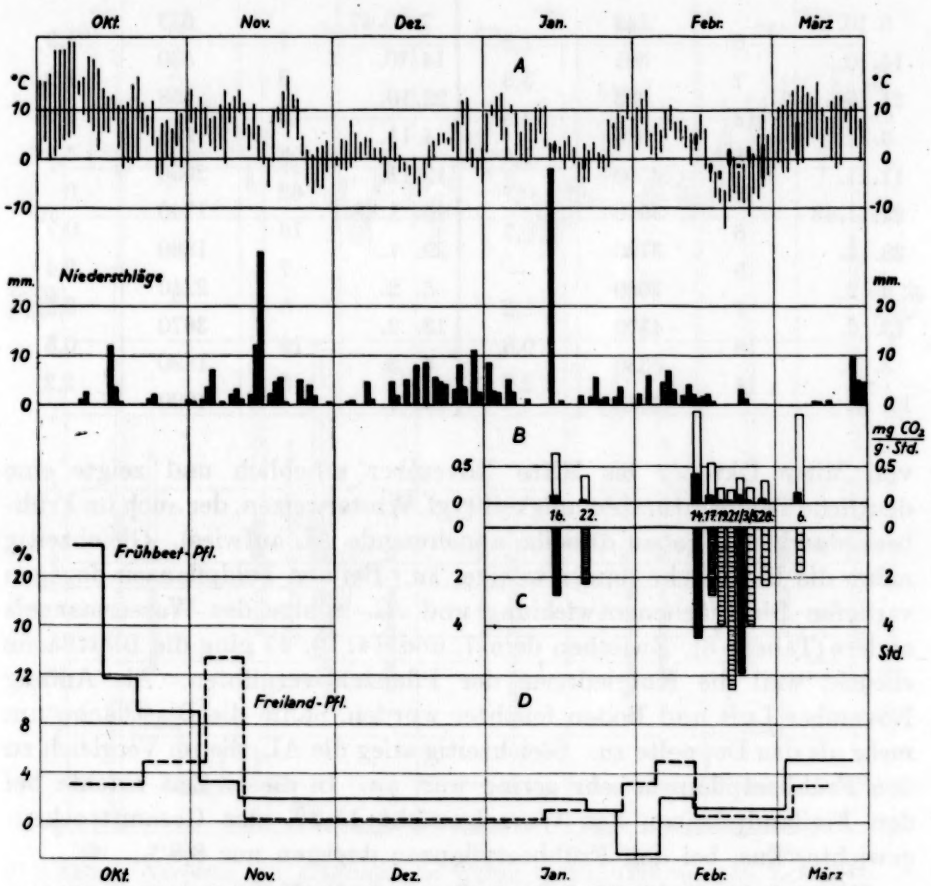


Abb. 4. Versuche mit Winterspinat im Winter 1947/48 (Erl. vgl. Abb. 2, S. 508).

Probenentnahme am 17. 10. 47 waren die Frühbeetpflanzen 8 und die Freilandpflanzen 14 Tage alt. Das Stadium des geringen Zuwachses nach der Keimung, das wir Ende Oktober 1946 beobachteten, war schon vorbei. Bei den gut gegossenen Pflanzen im Frühbeet nahm der Stoffgewinn, der anfangs bei warmen, sonnigen Tagen hoch war, mit sinkender Temperatur ständig ab. Bei den Freilandpflanzen blieb er anfangs infolge extremer Trockenheit klein, wurde mit besserer Befeuchtung etwas größer, um nach Einsetzen stärkerer Regen im November trotz sinkender Temperaturen erheblich emporzuschnellen.

Genau so gegensätzlich verhielt sich die Assimilationsleistung der Frühbeet- und Freilandpflanzen (Tabelle 8). Sie sank bei dem Frühbeetspinat

Tabelle 8. *Entwicklung der Blattfläche und Assimilationsleistung (AL) bei Winterspinat 1947/48 (auf 100 Pflanzen berechnet).*

Frühbeetspinat				Freilandspinat			
Datum	Zahl der Tage	Blattfläche cm^2	AL $g/m^2 \cdot d$	Datum	Zahl der Tage	Blattfläche cm^2	AL $g/m^2 \cdot d$
8.10.47		142		7.10.47		673	
	6		7,3		7		1,3
14.10.		501		14.10.		530	
	7		3,8		8		1,9
21.10.		933		22.10.		558	
	13		2,6		13		2,6
3.11.		2010		4.11.		918	
	8		1,4		8		5,8
11.11.		2500		12.11.		2050	
	72		0,7		62		0
21. 1.48		3900		13. 1.48		1740	
	6		0,7		16		0,7
28. 1.		3790		29. 1.		1880	
	9		—		7		2,4
6. 2.		3080		5. 2.		2240	
	7		1,2		8		3,2
13. 2.		4370		13. 2.		3670	
	18		0,8		19		0,5
3. 3.		5350		4. 3.		1880	
	14		2,9		8		2,2
17. 3.		9850		12. 3.		4020	

von Mitte Oktober bis Mitte November erheblich und zeigte eine deutliche Temperaturabhängigkeit (vgl. Winterweizen, der auch im Frühbeet stand, und genau dieselbe abnehmende AL aufwies). Gleichzeitig nahm die Blattfläche immer weniger zu. Bei den Feldpflanzen dagegen verliefen Blattflächenentwicklung und AL infolge des Wassermangels anders (Tabelle 8). Zwischen dem 7. und 14. 10. 47 ging die Blattfläche zurück, weil die Kotyledonen der Pflanzen vergilbten. Als Anfang November Luft und Boden feuchter wurden, nahm die Blattfläche um mehr als das Doppelte zu. Gleichzeitig stieg die AL, die im Vergleich zu den Frühbeetpflanzen sehr gering war, an. In dieser Zeit machte bei den Freilandpflanzen das Wurzelgewicht 15,2% des Gesamttrockengewichtes aus, bei den Frühbeetpflanzen dagegen nur 8,8%.

Vom 12. 11. 47 bis 13. 1. 48 mußten wir die Untersuchungen unterbrechen. Der durchschnittliche Stoffgewinn während dieser Zeit war bei den Feldpflanzen gleich Null, bei den günstiger gestellten Pflanzen im Frühbeet konnte noch ein geringer Zuwachs verzeichnet werden. Von Mitte Januar an haben die Stoffgewinndarstellungen kaum mehr Bedeutung. Bei den Frühbeetpflanzen trat Peronospora auf, und die Krankheit führte zu einer merkbaren Stoffabnahme. Bei den Freilandpflanzen entstanden während der Kälteperiode im Februar große Schäden durch Frosttrocknis.

Da uns in erster Linie Atmung und Assimilation an kalten Wintertagen interessierte, führten wir während der Kälteperiode im Februar 1948 nochmals CO_2-Bilanzversuche durch (Abb. 4), die die Resultate der

Versuche aus den Kälteperioden 1946/47 bestätigten. Mit Einbruch der Kälte nimmt die RI stärker ab als die AI, trotzdem wird die Zeit vom Sonnenaufgang bis zur TKP größer; mit zunehmenden Temperaturen treten die umgekehrten Verhältnisse auf. Wie bei den Getreidearten beobachteten wir auch bei Spinat stets positive CO_2-Bilanz.

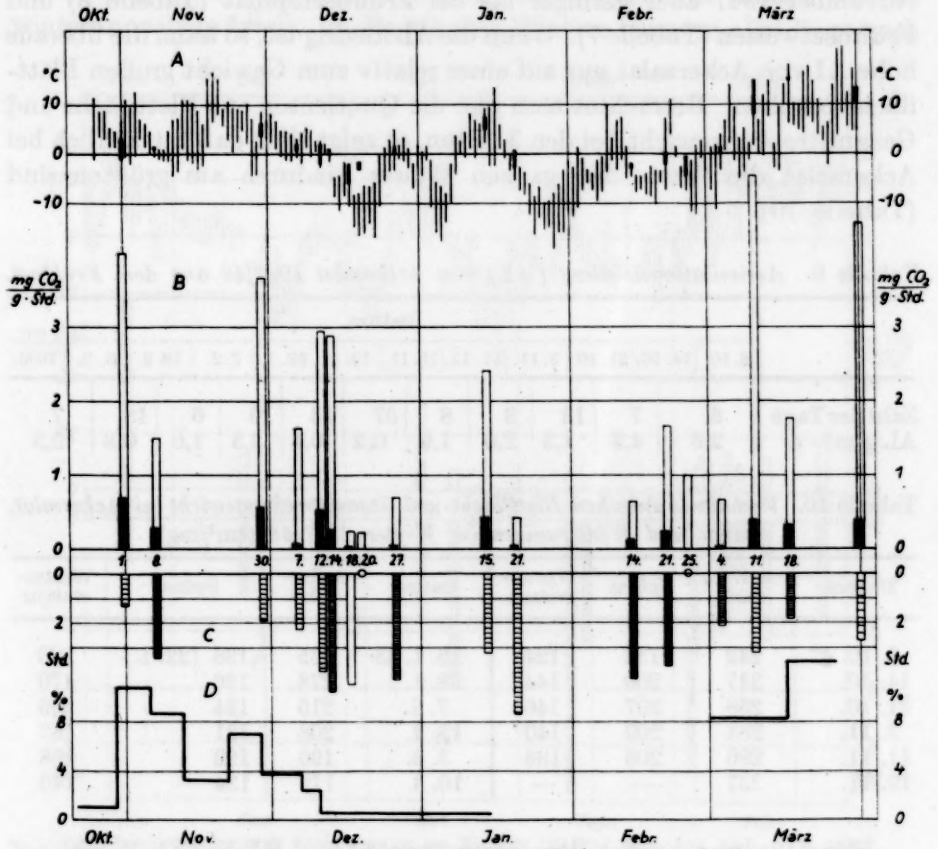


Abb. 5. Versuche mit Ackersalat im Winter 1946/47 (Erl. vgl. Abb. 2, S. 508).

Folgende 2 Einzelversuche über den CO_2-Gaswechsel seien herausgegriffen. Am 19. 2. 48, dem kältesten Versuchstag im Winter 1947/48, atmeten die Pflanzen noch deutlich meßbar zwischen -5^0 und -9^0 C, und assimilierten zwischen $-2{,}5^0$ und -4^0 C. Die Kolben lagen 1—2 cm unter Schnee. Am 23. 2. 48 assimilierten die Pflanzen 5 cm unter Schnee bei $-1{,}5^0$ C und Helligkeitsstufe 1.

4. Versuche mit Ackersalat.

Ackersalat verhielt sich in beiden Versuchswintern sehr ähnlich wie die bisher besprochenen 3 wintergrünen, krautigen Arten (Abb. 5). Sein Temperaturminimum der Assimilation lag zwischen $-2{,}5^0$ und $-4{,}0^0$ C und sein Temperaturminimum der Atmung zwischen -5^0 und -9^0 C.

Bei Temperaturen, die dicht über dem Nullpunkt lagen, waren AI und RI größer als bei den Getreidearten und auch bei Winterspinat. Es genügten bei Ackersalat wenige wärmere Tage, um nach den strengsten Kältezeiten hohe AI und RI hervorzurufen.

Die AL war von Frühbeetackersalat (Tabelle 9) im Oktober und November 1947 aber geringer als bei Frühbeetspinat (Tabelle 8) und Frühbeetweizen (Tabelle 7). Wenn die AL niedrig ist, so kann die überaus hohe AI von Ackersalat nur auf einer relativ zum Gewicht großen Blattfläche beruhen. Betrachtet man nun die Quotienten aus Blattfläche und Gesamttrockengewicht bei den 3 Arten, so zeigt sich, daß tatsächlich bei Ackersalat die Werte den ganzen Winter hindurch am größten sind (Tabelle 10).

Tabelle 9. *Assimilationsleistung (AL) von Ackersalat 1947/48 aus dem Frühbeet.*

	Datum										
	8. 10.	14. 10.	21. 10	3. 11.	11. 11.	19. 11.	15. 1.	28. 1.	7. 2.	13. 2.	3. 3.	10. 3.
Zahl der Tage	6	7	13	8	8	57	13	10	6	18	7	
AL g/m² · d	2,6	4,8	1,8	2,0	1,9	0,2	0,4	2,3	1,0	0,8	2,5	

Tabelle 10. *Verhältnis zwischen Blattfläche und Gesamttrockengewicht bei Ackersalat, Spinat und Winterweizen im Winter 1947/48* (cm²/mg).

Datum	Acker-salat	Spinat	Winter-weizen	Datum	Acker-salat	Spinat	Winter-weizen
8. 10. 47	242	132	124	15. 1. 48	265	138 (22. 1.)	220
14. 10.	317	200	144	28. 1.	278	126	170
21. 10.	238	207	146	7. 2.	215	134	206
3. 11.	284	209	140	13. 2.	208	121	187
11. 11.	296	206	186	3. 3.	190	122	158
19. 11.	237	—	—	10. 3.	172	134	140

Nur wenn man bei der Berechnung von AI und RI die CO_2-Menge auf das Gesamttrockengewicht bezieht, sind diese Größen bei Ackersalat so hoch. Ist die Bezugsbasis statt dessen die Blattfläche, so nehmen die Werte der AI der einzelnen Arten, entsprechend dem Verhältnis Trockengewicht zu Blattfläche, eine ganz andere Rangfolge ein, wie aus folgenden Zahlen vom 14. 2. 48 zu erkennen ist:

Assimilationsintensität	mg CO_2/g · h	mg CO_2/dm² · h
Ackersalat	2,5	1,06
Winterspinat	1,24	0,89
Winterweizen	1,72	1,84

Im allgemeinen wird bei Assimilationsversuchen die Assimilation auf Blatttrockengewicht oder -fläche bezogen. Da wir unsere Versuche bei den wintergrünen, krautigen Arten mit ganzen Pflanzen durchführten

und die Wurzelatmung bei Tag für die CO_2-Bilanz wichtig ist, da sie die Assimilation herabdrückt, bezogen wir bei den Winterannuellen die Assimilation auf das Trockengewicht von Wurzel und Sproß.

5. Versuche mit Picea excelsa.

Die Fichtenzweige verhielten sich nun wesentlich anders als die winterannuellen Arten. Zu Beginn des Winters konnten allerdings noch

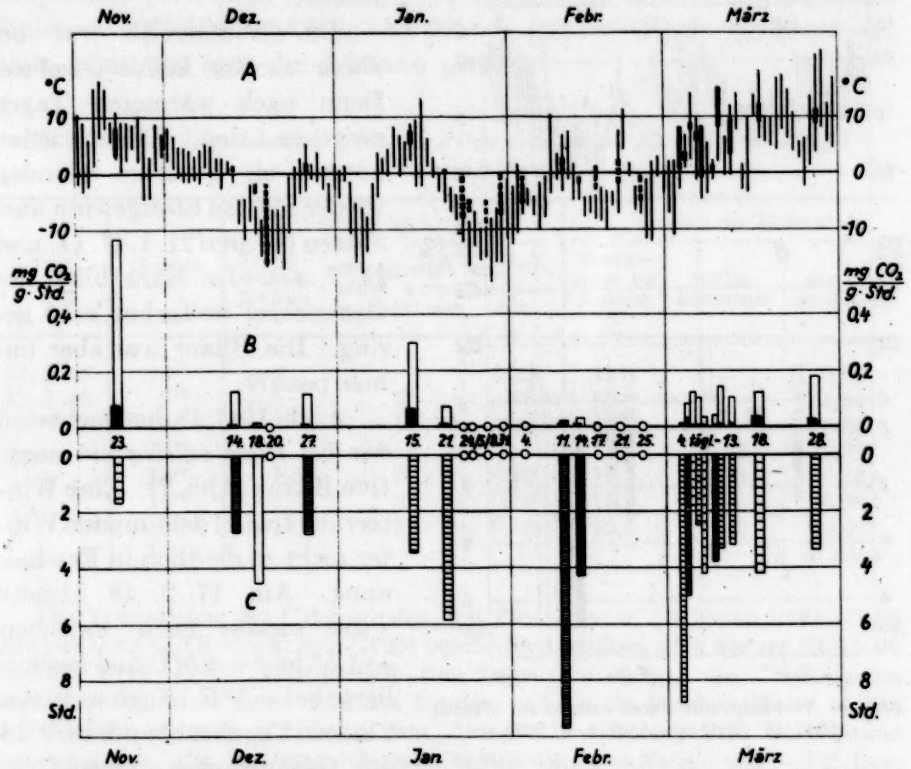


Abb. 6. Versuche mit *Picea excelsa* im Winter 1946/47 (Erl. vgl. Abb. 2, S. 508).

keine nennenswerten Unterschiede festgestellt werden (Abb. 6). Aus dem Versuch vom 14. 12. 46 ersehen wir, daß seit dem 23. 11. 46 der Gasaustausch sehr gehemmt war, und daß die Atmung, wie bei den Winterannuellen, stärker zurückging als die Assimilation. Und am 18. 12. 46, dem 4. Tag der 1. Kälteperiode, atmete *Picea excelsa* zwischen —6° und —12° C, assimilierte zwischen —2° und —6° C und hatte positive CO_2-Bilanz (der größere Maßstab für AI und RI auf Abb. 6—9 ist zu beachten!).

Nach 2 Tagen, am 20. 12. 46 ruhte der Gasaustausch bei Nacht zwischen —10° und —16,5° C und bei Tag zwischen —2° und —16° C vollkommen. Winterweizen und Wintergerste atmeten an diesem Tage auch nicht meßbar, begannen aber zu assimilieren, als die Temperatur

auf —2° C anstieg. Mit einsetzenden tiefen Temperaturen verfiel *Picea excelsa* in einen Ruhezustand. Vom 24. 1. bis 4. 2. 47 und vom 17. 2. bis 25. 2. 47 konnte man, wie die Ringchen auf Abb. 6 zeigen, keinen Gaswechsel feststellen, auch wenn die Temperaturen im Assimilationskolben bei Tag über dem Nullpunkt lagen und die Helligkeit optimal war. Die Winterannuellen erreichten an allen Versuchstagen in dieser Zeit positive Bilanz.

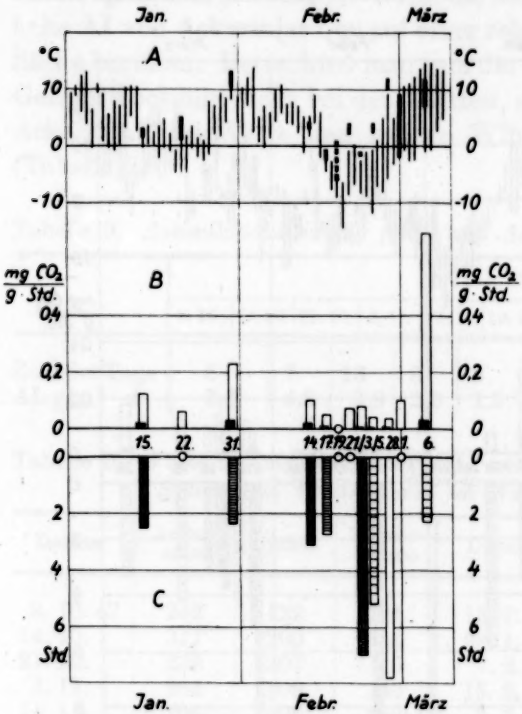


Abb. 7. Versuche mit *Picea excelsa* im Winter 1947/48 (Erl. vgl. Abb. 2, S. 508).

Die Winterruhe war bei *Picea excelsa* keine absolute. Denn nach wärmeren Tagen zwischen den Kälteperioden konnte sie günstige Stunden wieder für den Stoffgewinn ausnützen (15. und 21. 1. 47, 11. und 14. 2. 47). Im März blieb der Gaswechsel weiterhin sehr gering. Die Bilanz war aber immer positiv.

Auch 1947/48 beobachteten wir bei *Picea excelsa* nie negative Bilanz (Abb. 7). Eine Winterruhe trat in dem milden Winter nicht so deutlich in Erscheinung. Am 17. 2. 48 atmete *Picea excelsa* noch zwischen —1,5° und —4,5° C und assimilierte bei —1° C. Nach weiteren 2 kalten Tagen ruhte am 19. 2. 48 der Gasaustausch, obwohl im Assimilationskolben die Temperatur auf +1° C anstieg. Die Winterannuellen hatten an diesem Tage positive Tagesbilanz. An allen folgenden Versuchstagen im Februar 1948 assimilierten die Fichtenzweigchen. Am 6. 3. 48 wurde der Gasaustausch äußerst lebhaft, und man könnte annehmen, daß bei *Picea excelsa* die Winterruhe beendet und die Enthärtung der Pflanzen eingetreten sei. Leider konnten keine weiteren Versuche gemacht werden, die gezeigt hätten, ob die aktive Tätigkeit anhielt.

Im Gegensatz zu den Winterannuellen stimmten die Parallelversuche nicht immer miteinander überein, weil vermutlich bei den Zweigen der Grad der Winterruhe verschieden war. [Auch MÖNCH (1937), beobachtete bei ihren Assimilationsversuchen mit *Picea excelsa* abweichendes Verhalten der Versuchsobjekte.]

Bei vielen Assimilationsversuchen bei tiefen Temperaturen wurden auch Parallelversuche im warmen Raum durchgeführt. Bei diesen Ver-

suchen war der Gasaustausch sehr lebhaft, auch wenn er im Freien ruhte oder sehr gehemmt war. Die Atmung stieg viel stärker an als die Assimilation, und ging manchmal über die mit der Methode erfaßbare CO_2-Menge hinaus. Die TK trat deshalb oft sehr spät ein. Der Doppelversuch vom 23. 2. 48 zeigt dies unterschiedliche Verhalten sehr deutlich (Tabelle 11). Die Zweige für die Versuche stammten von demselben Ast eines Fichtenbäumchens. Das Verhältnis von AI zu RI betrug bei Zimmertemperatur (0,64:0,14 mg CO_2/g · h) 4,6 und bei tiefer Temperatur im Freien (0,08:0,003 mg/CO_2/g · h) 27. Je größer dieser Quotient ist, desto günstiger sind die Pflanzen gestellt.

Tabelle 11. *Tagesbilanzversuch mit Picea excelsa am 23. 2. 48 im Freien und im warmen Raum.*

Tag	Stunde	Versuch im Freien			Versuch im Zimmer		
		Temperatur im Kolben °C	Helligkeitsstufe 5 cm unter Schnee	mg CO_2 im Kolben	Temperatur im Kolben °C	Helligkeitsstufe	mg CO_2 im Kolben
22. 2. 48	18^{30}	—3	—	0,32	13	—	0,32
23. 2. 48	7^{45}	—5	1	0,36	12	1	1,54
	10^{00}	—3	1	0,36	15	2	0,62
	11^{00}	—	—	—	16	2—3	0,22
	12^{00}	—1,5	1	0,36	16,5	2—3	0,12
	14^{00}	—1,5	2	0,29	15,0	2—3	0,08
	15^{30}	—1,5	2	0,16	15,5	2—3	nicht meßbar

Die Veränderung der Chloroplasten von *Picea excelsa*, die ZACHAROWA (1929) und IWANOFF und KOSSOWITSCH (1929) beschreiben, stellten auch wir am 20. 12. 46 und am 10. 2. 47 auf Blattquerschnitten fest. Obwohl man die Chloroplasten mikroskopisch nicht mehr erkennen konnte, und sie als formlose Masse in den Zellen diffus verteilt erschienen, war dies für die Photosynthese anscheinend bedeutungslos. Für die Untersuchungen kamen die *Picea*-Nadeln von —12° bzw. —1,5° C Außentemperatur 2 Std lang in einen ungefähr 0° warmen Raum. Das Anfertigen und Ansehen der Schnitte geschah jedoch bei +18° C. Wir dürfen also nicht ohne weiteres von dem mikroskopischen Bild der Chloroplasten in der Wärme auf die Struktur derselben bei den im Freien herrschenden tiefen Temperaturen schließen.

6. *Versuche mit Prunus laurocerasus.*

Prunus laurocerasus, aus der Gruppe der wintergrünen Laubhölzer, der in Gebieten mit sehr mildem Klima beheimatet ist, zeigte gegenüber den Winterannuellen einerseits und gegenüber *Picea excelsa* andererseits ein unterschiedliches Verhalten.

Am 18. 12. 46 (Abb. 8) wies er dasselbe Temperaturminimum für Atmung (zwischen —6° und —12° C) und Assimilation (zwischen —2° und —6° C) auf wie die Wintergrünen und *Picea excelsa*. Diese

Ergebnisse zu Beginn der Kältezeit sind aber eine Ausnahme. *Prunus laurocerasus* assimilierte während all der folgenden Versuche nie bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt und atmete auch bei den oben angegebenen tiefen Temperaturen nicht mehr. In Zeiten, in denen *Picea excelsa* in Winterruhe fiel, neigte *Prunus laurocerasus* bei Tag zu einem Gasaustausch, aber stets mit negativer Bilanz.

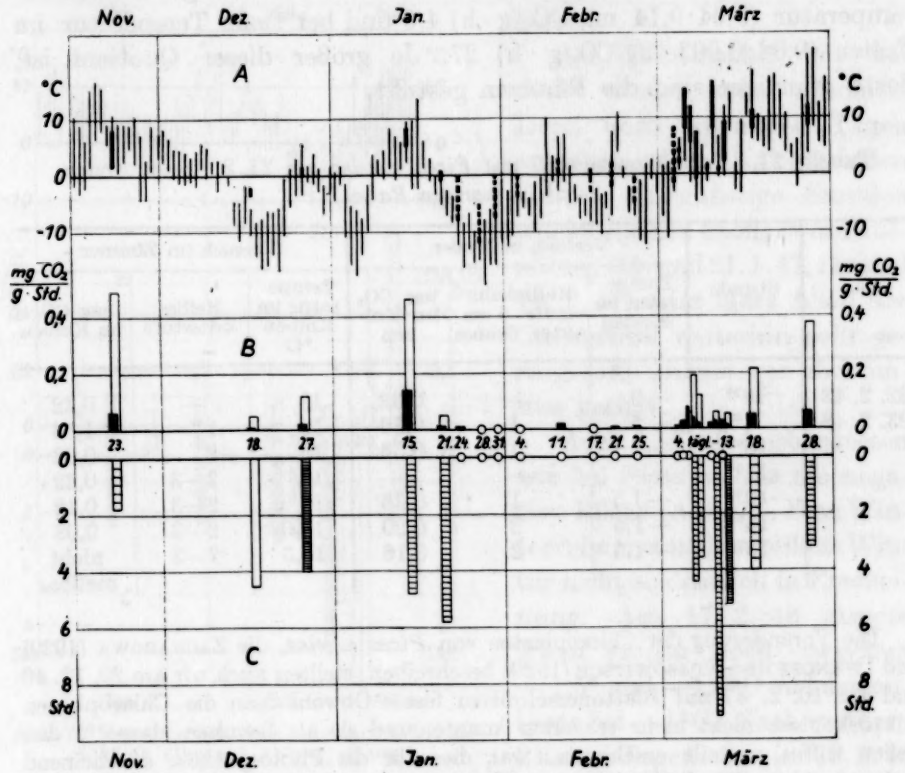


Abb. 8. Versuche mit *Prunus laurocerasus* im Winter 1946/47 (Erl. vgl. Abb. 2, S. 508).

Das unterschiedliche Verhalten der bisher besprochenen Arten und desjenigen von *Prunus laurocerasus* wollen wir an folgenden Einzelversuchen näher betrachten. Am 24. 1. 47 konnte man nachts zwischen —7° und —9° keine Atmung messen, als aber bei Tag gegen 12 Uhr die Temperatur im Kolben 6 cm unter Schnee auf 0° C anstieg, trat eine sehr deutliche CO_2-Abgabe ein. (Versuche im warmen Raum am 29. und 31. 1. 47 ergaben, daß die Blätter bei höheren Temperaturen nachts sehr stark atmeten und bei Tag auch assimilierten.) Auch am 11. 2. 47 reichte die Assimilation bei Tag nicht aus, um die Dunkelatmung zu kompensieren. Am 21. und 25. 2. 47 begann *Prunus laurocerasus* um die Mittagszeit bei —0,5° C mit einer schwachen Atmung. Kurze Zeit nahmen die Blätter etwas CO_2 auf, die Bilanz blieb aber negativ. Bei den Versuchen Anfang März atmeten die Blätter nachts. Bei Tag assimilierten

sie aber nicht, oder für eine Kompensation nicht ausreichend. (Bei Parallelversuchen im warmen Raum war die Dunkelatmung 6,5mal so groß wie im Freien. Es ist dies dieselbe Erscheinung, die wir bei *Picea excelsa* in Tabelle 11 nachgewiesen haben.) Vom 13. 3. 47 an war die CO_2-Bilanz positiv.

Vom 11. Februar an prüften wir bis Ende März bei *Prunus laurocerasus* die Stomataweite mit der Petrol-Äther-Infiltrationsmethode. Sehr oft ergaben die Untersuchungen im Freien Spaltenschluß, so daß letzterer die Ursache der ausbleibenden Assimilation sein dürfte.

Daß *Prunus laurocerasus* in den Monaten Februar und März 1947 oft negative Bilanz hatte, ging auch aus dem Aussehen der Sträucher hervor. Ende März war ein Teil der mehrjährigen Blätter vergilbt und fiel später ab. Frostschäden traten an den schattig stehenden Versuchsbüschen in dem kalten Winter 1946/47 nicht auf. Nur ein sonnig stehender Busch litt an seiner Südseite stark unter Frosttrocknis.

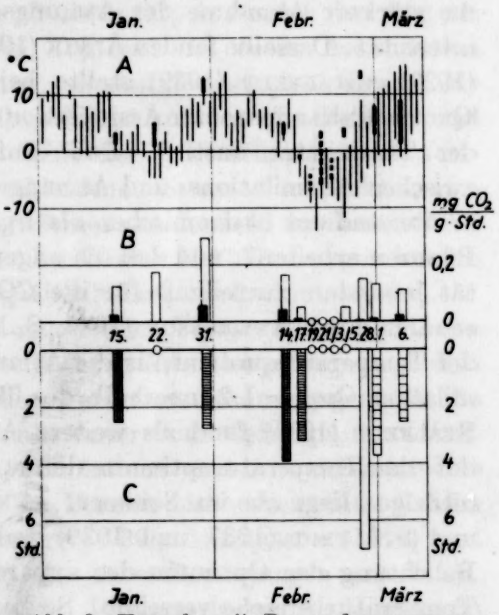


Abb. 9. Versuche mit *Prunus laurocerasus* im Winter 1947/48 (Erl. vgl. Abb. 2, S. 508).

Im milden Winter 1947/48 wurde auch bei *Prunus laurocerasus* nie negative Bilanz beobachtet (Abb. 9). Während der Kälteperiode Ende Februar ruhte am 19., 21. und 23. 2. 48 der gesamte Gasaustausch. Das Ausbleiben eines Stoffverlustes konnte man auch an den Sträuchern erkennen. Sie sahen im Frühjahr genau so üppig grün aus wie im Herbst.

C. Besprechung der Ergebnisse.

Bei allen untersuchten Arten nahmen Atmungs- und Assimilationsintensität mit fallender Temperatur im Spätherbst ab, und die Zeit bis zum Erreichen des Tageskompensationspunktes wurde größer. Während der Wintermonate dagegen verhielten sich die 4 krautigen, wintergrünen Arten, Winterweizen, Wintergerste, Ackersalat und Winterspinat deutlich anders als das wintergrüne Nadelholz *Picea excelsa* und das wintergrüne Laubholz *Prunus laurocerasus*.

Die Winterannuellen vermochten bei tiefen Temperaturen die Dunkelatmung auf ein Minimum einzuschränken und jederzeit bei Temperaturen von -1^0 und -2^0 an mit der Assimilation einzusetzen. Deshalb war

ihre Tagesbilanz immer positiv. Ein Ruhezustand im Gaswechsel konnte nie beobachtet werden. Im Winter ist bei diesen Arten immer mit einem gewissen Stoffgewinn zu rechnen. Er kann in milden Wintern, wie es 1947/48 der Fall war, ganz erheblich sein, in extrem kalten Wintern wie 1946/47 bewegte er sich an der Null-Grenze. Sobald im März die Temperatur anstieg, erreichten sie die hohe Assimilations- und Atmungsintensität des Herbstes.

Zu einer positiven Tagesbilanz bei tiefen Temperaturen führte auch die stärkere Abnahme der Atmungs- im Vergleich zur Assimilationsintensität. Dasselbe fanden ÅLVIK (1939) und IWANOFF u. KOSSOWITSCH (1929). STÅLFELT (1939) stellte bei seinen Versuchen fest, daß der Quotient aus apparenter Assimilation und Dunkelatmung bei abnehmender Temperatur anstieg. Daß „infolge der günstigen Beziehungen zwischen Assimilations- und Atmungsintensität die Getreidepflanzen im Winterstadium ökonomischer als irgendwelche bis jetzt untersuchten Pflanzen arbeiten", und daß die ungewöhnlich niedrige Atmungsintensität besonders vorteilhaft für die CO_2-Bilanz der Winterannuellen ist, erwähnt auch ANDERSSON (1944, S. 149). Nach seinen Ergebnissen ist der Temperaturquotient für die Atmung $Qu_{10} = 2—3$ und für die Assimilation $Qu_{10} = 1{,}2$ innerhalb des Temperaturbereiches von 2—12° C. STÅLFELT (1939) fand als weitere Anpassung an tiefe Temperaturen, daß das Temperaturoptimum der apparenten Assimilation im Winter niedriger liegt als im Sommer. LUNDEGÅRDH (1924), MÜLLER (1928) und STÅLFELT (1937 und 1939) teilten mit, daß bei abnehmender Belichtung das Optimum der apparenten Assimilation sich in tiefere Temperaturbereiche verschob. So kann man verstehen, daß in unseren Versuchen die winterannuellen Arten bei Temperaturen von 0—2° C und geringer Belichtung unter 5—6 cm Schnee eine positive Tagesbilanz hatten. ÅLVIK kam zu dem Resultat, wie es auch unsere Versuche bestätigten, daß nämlich maximales Licht bei gleichzeitig großer Kälte keinen Einfluß auf die Assimilation hat.

Bei *Picea excelsa* war die Bereitschaft zur Atmung und Assimilation nicht so groß wie bei den Winterannuellen. Sie macht bei anhaltender Kälte an ihrem natürlichen Standort in Nordeurasien eine ausgesprochene Winterruhe durch (IWANOFF und KOSSOWITSCH 1929, HENKEL und LITWINOW, angeführt bei WALTER 1934). In unserem Klima hält die Winterruhe aber nicht den ganzen Winter hindurch an, sondern sie wird an milden Tagen unterbrochen. Dennoch blieb der Gasaustausch, auch wenn die äußeren Bedingungen günstig waren, stark gehemmt. Starke und plötzliche Temperaturerhöhungen im Winter bei Parallelversuchen im warmen Raum vergrößerten die Atmungsintensität erheblich mehr als die Assimilationsintensität. Im Frühjahr trat die Enthärtung sehr spät ein. Trotz günstiger Belichtung und Temperatur waren Assimilations-

und Atmungsintensität im März noch gehemmt. In dem milden Winter 1947/48 fehlte eine auch nur zeitweilige Winterruhe.

Prunus laurocerasus war von allen untersuchten Arten im Winter am ungünstigsten gestellt. Der immergrüne Strauch ist im vorderasiatischen und östlichen Mediterrangebiet beheimatet, wo er sich im Winter ununterbrochen weiterentwickeln kann. In unserem Klima vermag er sich nicht an tiefe Temperaturen anzupassen. In kalten Zeiten, in denen bei *Picea excelsa* Assimilation und Atmung ruhten, hatte *Prunus laurocerasus* an den Versuchstagen oft einen CO_2-Austausch, bei dem die Dunkelatmung überwog. Und bei Tag war die reelle Assimilation manchmal geringer als die Atmung, so daß *Prunus laurocerasus* als einzige Versuchsart oft negative Tagesbilanz aufwies. Im Februar und März hemmte Spaltenschluß, mit Hilfe der Infiltrationsmethode festgestellt, die Assimilation. Die geschlossenen Stomata schränkten vermutlich die Verdunstung bei der wärmer werdenden, trockenen Luft und gleichzeitigem Bodenfrost ein. Im Winter 1947/48 dagegen konnte bei *Prunus laurocerasus* keine negative Bilanz beobachtet werden.

Um eine Übersicht über die ungefähren Temperaturminima von Atmung und Assimilation der untersuchten Arten zu erlangen, sind in Tabelle 12 die Ergebnisse von allen Versuchen zusammengestellt, die im Winter 1946/47 bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt durchgeführt wurden. Die Werte von Assimilations- und Atmungsintensität sind nicht eingetragen. Sie lagen im Bereich bisher bekannter Zahlen von Lundegårdh (1924), Beljakoff (1930), Andersson (1944) und v. Reitzenstein (unveröffentlicht), die unter Bedingungen arbeiteten, die mit unseren vergleichbar waren. Dagegen lagen die Werte von Henrici (1921) und Zacharowa (1929) unwahrscheinlich höher als die unsrigen.

Die *winterannuellen Arten* zeigten untereinander keine wesentlichen Unterschiede. Sie assimilierten und atmeten beinahe an jedem der angeführten Versuchstage. Nur am 28. 1. 47 ruhte der Gasaustausch bei einem Temperaturmaximum von -5^0 im Kolben bei allen Arten ganz. Assimilation konnte noch eindeutig bis zu -2^0, am 25. 1. 47 bis zu -3^0 und Atmung bis zu -7^0 C nachgewiesen werden. Theoretisch wäre denkbar, daß die Pflanzen noch bei tieferen Temperaturen in unterschwelligen Werten assimilierten und atmeten. Unterhalb -10^0 (20. 12. 46) und -11^0 (28. 1. 47) konnten wir keine Atmung mehr feststellen.

Picea excelsa vermochte am 18. 12. 46 wie die Winterannuellen bei mindestens -2^0 zu assimilieren und bei mindestens -6^0 zu atmen. Im weiteren Verlauf des Winters lagen die erfaßbaren unteren Grenzen des Temperaturbereiches von Assimilation und Atmung aber um mehrere Grade höher.

Tabelle 12. *Assimilation und Atmung der winterannuellen Arten, Picea excelsa und Prunus laurocerasus in Temperaturbereichen unter dem Gefrierpunkt.*

Datum	Dunkelatmung				Assimilation			
	Temperaturamplitude °C	Winterannuelle	*Picea*	*Prunus*	Temperaturamplitude °C	Winterannuelle	*Picea*	*Prunus*
18. 12. 46	— 6 bis —12	+	+	+	—2 bis —6	+	+	+
20. 12.	—10 bis —16	—	—		—2 bis —6	+	—	
21. 1. 47	+ 1 bis — 3			+	0 bis —1			+
24. 1.	— 7 bis —10	+	—	—	0 bis —3	+	—	R
25. 1.	— 7 bis — 8	+	—		—3 bis —5,5	+	—	
28. 1.	—11 bis —15	—	—	—	—5	—	—	—
31. 1.	— 7,5 bis —11	+	—	—	0 bis —4,5	+	—	R
4. 2.	— 4 bis — 7	+	—	—	0 bis —1,5	+	—	—
11. 2.	0 bis — 3		+	+	0 bis +2,5		+	R
14. 2.	— 3 bis — 5	+	+		—1 bis —3	+	+	
17. 2.	— 5 bis — 7	—	—	—	+1 bis —3	+	—	—
21. 2.	— 2 bis — 6,5	+	—	+	0 bis —2	+	—	R
25. 2.	— 4,5 bis — 6	+	—	+	—0,5 bis —4,5	+	—	—
4. 3.	+ 0,5 bis — 3,5		+	+	+3 bis +8		+	—

+ Die Pflanzen assimilierten bzw. atmeten. — Die Pflanzen assimilierten nicht bzw. atmeten nicht. R Bei Tag überwog die Respiration.

Auch *Prunus laurocerasus* besaß am 18. 12. 46 noch dasselbe Assimilations- und Atmungsvermögen bei tiefen Temperaturen wie die Winterannuellen und *Picea excelsa*. Später assimilierte er aber bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt außer am 21. 1. 47 (Tabelle 12) nicht mehr. Und bei Temperaturen von —3° an atmete er sowohl nachts als auch bei Tag und hatte deshalb öfters negative Bilanz.

Wir stellten Assimilation und Atmung bei Temperaturen von mindestens —2° bzw. von —7° fest. ÅLVIK und v. REITZENSTEIN, die beide mit der p_H-Methode arbeiteten, hatten dieselben Ergebnisse. ÅLVIK (1939, S. 34) gibt an, „daß die Assimilation unterhalb —2° aufhört, während die Atmung auch in der Kälte merkbar ist". v. REITZENSTEIN beobachtete bei seinen Versuchen mit vielen winterannuellen Arten, Koniferen und Moosen auch nie einen Gasaustausch unter den angegebenen Temperaturen von —2° bzw. —7°. CARTELLIERI und IWANOFF und KOSSOWITSCH konnten mit den von ihnen angewandten Methoden (Luftstrom) die geringen aufgenommenen CO_2-Mengen bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt nicht mehr exakt erfassen und ließen deshalb die Frage offen, ob überhaupt eine Assimilation bei Temperaturen unter 0° möglich ist. Die Angaben von ZACHAROWA, die bei —13° und —14° C noch ganz beträchtliche Atmung und Assimilation bestimmte, wurden von mehreren Autoren (STOCKER 1927, WALTER 1934 und STÅLFELT 1939) in Frage gestellt. Genau so unsicher sind die Angaben von HENRICI. Sie fand die Lage des Schwellenwertes der Photosynthese für phanerogame Schattenpflanzen bei —16° C und für

Flechten bei —20° C. Vermutlich war bei ZACHAROWA und HENRICI die Versuchsmethodik, Absorption des CO_2 mit Natron-Kalk, mit einer Fehlerquelle behaftet. Ganz unverständlich sind die Untersuchungsergebnisse von JUMELLE (1892), der noch bei —40° C Assimilation nachwies.

Zusammenfassung.

Assimilation, Atmung und Stoffgewinn der winterannuellen Arten Winterweizen, Wintergerste, Winterspinat und Ackersalat und der immergrünen Holzpflanzen *Picea excelsa* und *Prunus laurocerasus* wurden in dem extrem kalten Winter 1946/47 und in dem milden Winter 1947/48 untersucht. Dabei kam es besonders auf das Verhalten der Arten bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt an. Der sehr geringe CO_2-Umsatz wurde kolorimetrisch bestimmt, und zwar mit Hilfe einer Meßmethode, die ÅLVIK und nach ihm v. REITZENSTEIN benützte. Sie beruht auf der Eigenschaft einer Natriumbikarbonatlösung, sich mit der jeweiligen CO_2-Spannung in der über ihr befindlichen Luft ins Gleichgewicht zu setzen, und dabei einen bestimmten p_H-Wert anzunehmen.

Sämtliche genannten Arten assimilierten zu Beginn des Winters noch bei —2° bzw. —3° C und atmeten bis zu —6° bzw. —7° C. Bei den Winterannuellen ruhten CO_2-Aufnahme und -Abgabe auch späterhin erst unterhalb dieser Temperaturgrenzen. Sie hatten keine Winterruhe. *Picea excelsa*, eine boreale Art, verfiel nach einigen Frosttagen in Winterruhe, die an milden Tagen von einem allerdings stark gehemmten Gaswechsel bei Temperaturen von 0° aufwärts unterbrochen wurde. Bei *Prunus laurocerasus*, einem Vertreter der frostempfindlichen, immergrünen Laubpflanzen, konnte nur zweimal zu Beginn des Winters Assimilation bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt beobachtet werden. Die Atmung war wohl gehemmt, trat aber oft in Erscheinung und verursachte eine negative Bilanz. Der Stoffhaushalt ist also bei den Winterannuellen an die tiefen Temperaturen am besten angepaßt. Hohe Lichtintensitäten begünstigten die Assimilation bei tiefen Temperaturen nicht.

Alle untersuchten winterannuellen Arten und *Picea excelsa* verminderten ihre Atmungs- und Assimilationsintensität während der Frosthärtung im Herbst, und zwar die Atmungsintensität stärker als die der Assimilation. Steigende Temperaturen förderten auch im Winter die Assimilations- und Atmungsintensität, allerdings waren dann die absoluten Werte niedriger als bei gleichen Temperaturen im Herbst. Die winterannuellen Arten erhöhten ihren Gaswechsel unter vergleichbaren Bedingungen relativ stärker als *Picea excelsa*.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. WALTER für die Anregung zu dieser Arbeit und für ihre vielfache Förderung durch Rat und Kritik. Herrn Doz. Dr. H. ELLENBERG danke ich sehr herzlich für stete Anteilnahme und viele Ratschläge beim Fortgang der Arbeit.

Literatur.

Ålvik, G.: Meddelelser fra Vestlandets Forstlige Forsöksstation. Bergen 1939.— Andersson, G.: Gas Change and Frost Hardening Studies in Winter Cereals. Lund 1944. — Bauer, Ph.: Planta (Berl.) **24**, 446 (1935). — Beljakoff, E.: Planta (Berl.) **11**, 727 (1930). — Blagowestschenski, W. A.: Planta (Berl.) **24**, 276 (1935). — Boysen Jensen, P., u. D. Müller: Jb. Bot. **70**, 442 (1929). — Carlberg, I. I.: Acta Forestalia Fennica **42** (1936). — Cartellieri, E.: Jb. Bot. **82**, 460 (1936). — Daxer, H.: Jb. Bot. **80**, 363 (1934). — Deneke, H.: Jb. Bot. **74**, 1 (1931). — Harder, R.: Ber. dtsch. bot. Ges. **41**, 194 (1923). — Harder, R., P. Filzer u. A. Lorenz: Jb. Bot. **75**, 45 (1932). — Heath, O. V. S., and F. G. Gregory: Ann. of Bot. **2**, 811 (1938). — Henrici, M.: Verh. naturforsch. Ges. Basel **32**, 107 (1921). — Iwanoff, L. A., u. N. L. Kossowitsch: Planta (Berl.) **8**, 427 (1929). — Jumelle, H.: Rev. gén. Bot. **4**, 168 (1892). — Kauko, Y.: Ann. Acad. Si. Fennicae, Ser. A. **39** (1934). — Kreusler, V.: Landw. Jb. **16**, 711 (1887). Larsen, P.: Planta (Berl.) **32**, 344 (1942). — Lundegårdh, H.: Biochem. Z. **154**, 195 (1924). — Klima und Boden in ihrer Wirkung auf das Pflanzenleben. Jena 1930. — Matthaei, G. L.: Philos. Trans. roy. Soc. London **197**, 47 (1905). — Mönch, I.: Jb. Bot. **85**, 506 (1937). — Müller, D.: Planta (Berl.) **6**, 22 (1928) — Osterhout, W. I. V.: Bot. Gaz. **68**, 60 (1919). — Pisek, A., u. R. Schiessl: Ber. Naturw.-Med. Ver. Innsbruck **47**, 33 (1939—1946). — Stålfelt, M. G.: Planta (Berl.) **27**, 839 (1937); **29**, 11 (1939). — Stocker, O.: Flora (Jena) **121**, 334 (1927). — Planta (Berl.) **24**, 402 (1935). — Thren, R.: Z. Bot. **26**, 449 (1934). — Tjebbes, K., u. I. C. Th. Uphof: Landw. Jb. **56**, 313 (1921). — Ullrich, H.: Protoplasma (Berl.) **38**, 156 (1943). — Walter, H.: Ber. dtsch. bot. Ges. **46**, 540 (1928). — Die Hydratur der Pflanze und ihre physiologisch-ökologische Bedeutung. Jena 1931. — Fortschr. Bot. **3**, 178 (1934). — Biol. Zbl. **67**, 89 (1948). — Zacharowa, T. M.: Planta (Berl.) 8, 68 (1929).

Dr. Otti Zeller, Korntal bei Stuttgart, Hoffmannstr. 25.

Planta, Bd. 39, S. 527—541 (1951).

ÜBER ANTWEILERIA UND ANDERE GATTUNGEN DER JUGLANDACEEN.

Von

FRANZ KIRCHHEIMER.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. April 1951.)

Mit Ausnahme von *Oreomunnea* OERSTED und *Rhamphocarya* KUANG haben die Juglandaceen-Gattungen der gegenwärtigen Flora einwandfrei bestimmbare Fruchtreste in den Schichten des europäischen Tertiärs hinterlassen. Das Untere Eozän des südöstlichen Englands lieferte Fossilien, die BOWERBANK (1840, S. 43—50) unter *Petrophiloides* beschrieben hat. Nach REID und CHANDLER (1933, S. 133—140) entsprechen sie den Fruchtständen des von SIEBOLD und ZUCCARINI (1843, S. 741—743) als *Platycarya strobilacea* bezeichneten, heute auf China und Japan beschränkten Gewächses. Die für Europa ältesten Fruchtreste von *Engelhardtia* sind aus Ablagerungen des Mittleren Eozäns bekannt. Bis in das Pliozän war diese heute in Ost- und Südasien sowie auf Neuguinea vorkommende Gattung ein Glied der mitteleuropäischen Flora. Von einigen Formen der *Engelhardtia* ist die mittelamerikanische, nur durch eine Art vertretene *Oreomunnea* nicht wesentlich verschieden. Ein Teil der aus den Schichten des Tertiärs bekannten Abdrücke zeigt eine den Hüllen ihrer erheblich größeren Früchte besonders ähnliche Nervatur, so daß man solche Fossilien nicht auf *Engelhardtia* bezog, sondern als *Palaeocarya* SAPORTA und *Paraengelhardtia* BERRY bezeichnet hat. Sie sind aber nach der berechtigten Kritik im neueren Schrifttum keinesfalls geeignet, das nicht unwahrscheinliche Vorkommen einer weiteren Gattung aus der Verwandtschaft von *Engelhardtia* für das Tertiär zu belegen. Auch die gegenwärtig auf ein kleines vorderasiatisches Areal sowie Teile von China und Japan beschränkte *Pterocarya* KUNTH gehörte bereits im älteren Tertiär zur Flora des Gebietes. Sie war nach dem Zeugnis von Fruchtresten noch während des obersten Pliozäns verbreitet und soll selbst in Mitteleuropa die älteste Zwischeneiszeit erlebt haben. Allerdings ist das Alter der ihr zugewiesenen Schichten strittig. Aus einwandfrei dem Quartär angehörenden Ablagerungen dieses Gebietes sind nur Blattreste beschrieben worden, die eine andere Deutung fanden oder mir zweifelhaft erscheinen. Von REID und CHANDLER (1926, S. 93—95) als *Hooleya* bezeichnete, 2flügelige Fruchtabdrücke aus dem älteren Oligozän des südlichen Englands sind keine Reste einer erloschenen Gattung der Juglandaceen, sondern gehören nach meiner Ansicht zu

Pterocarya (1937a, S. 57/58). Mit ihren Früchten teilen sie die Gestalt, das Vorkommen zweier Griffel mit je 2 Narben, der schildförmigen Drüsen sowie die Insertion und Nervatur der seitlichen Flügel; der innere Bau ist unbekannt.

Die in Mitteleuropa ältesten sicheren Fruchtreste von *Juglans* L. stammen nach meinen Feststellungen aus dem Unteren Oligozän (1951a). Das erste Auftreten der heute im östlichen Nordamerika und südöstlichen China heimischen *Carya* NUTTALL ist für das Mittlere Oligozän belegt[1]. Beide Gattungen waren bis gegen das Ende des Tertiärs in Mitteleuropa heimisch. Aus den mit Sicherheit während des Quartärs entstandenen Schichten in diesem Gebiete sind ihre Fruchtreste unbekannt und nur Blattabdrücke erwähnt worden. Von *Juglans* kennt man einwandfreie Fossilien aus solchen Ablagerungen des südlichen Europas.

Diese Übersicht beruht auf dem Inhalt des die Juglandaceen behandelnden Abschnittes meines Werkes über die Laubgewächse des mitteleuropäischen Tertiärs[2]. Einen Katalog der als Reste von Juglandaceen gedeuteten Fossilien hat NAGEL (1915, S. 1—87) geliefert; ihn ergänzen die Bemerkungen über einstige und lebende Vertreter der Familie (1914, S. 459—530). Die gegenwärtigen Areale des Vorkommens von *Carya*, *Engelhardtia*, *Juglans*, *Oreomunnea*, *Platycarya* und *Pterocarya* hat SCHMUCKER (1942; Abb. 121—127) dargestellt. Auch die von LEHNER (1944) für *Carya*, *Engelhardtia* und *Oreomunnea*, *Juglans* sowie *Pterocarya* gegebenen Grenzen sind zu beachten (Karten 3—6).

In neuerer Zeit sind unsere Kenntnisse über die einstige Verbreitung der Juglandaceen nicht unwesentlich erweitert worden. OISHI (1936, S. 56—59) hat unzweifelhafte Abdrücke der Fruchtflügel einer *Engelhardtia* im älteren Tertiär von Korea festgestellt. Mit ihnen ist das einstige Vorkommen der Gattung für Ostasien nachgewiesen; ihre Verbreitung erstreckte sich um mindestens 10 Breitengrade weiter nach Norden als in der Gegenwart. Aus dem jüngsten Tertiär des mittleren Japans hat MIKI (1937, S. 308—310; 1941, S. 265) mehrere Fruchtformen von *Carya* mitgeteilt (vgl. auch 1948, S. 112; 1950, S. 84). Das in der Gegenwart auf Südostchina beschränkte asiatische Areal der Gattung wird durch diese Funde wesentlich erweitert. Der Vergleich der Fossilien mit den *Carya*-Resten des europäischen Tertiärs ist nicht möglich, da die schlechten Abbildungen nur durch wenige Angaben über den Bau erläutert sind. Über die nähere Zugehörigkeit der von

[1] *Hicoroides* PERKINS (1905, S. 513) bezeichnet entgegen NAGEL (1914, S. 498; 1915, S. 5 und 20) keinen Holzrest, sondern eine Fruchtform aus der dem älteren Tertiär angehörenden Braunkohle des nordöstlichen Nordamerikas. Soweit die schlechte Abbildung ein Urteil gestattet, ist ihre Herkunft von einer Gattung der Juglandaceen unwahrscheinlich.

[2] Verlag Gustav Feller (Nottuln i. W.); die erste Lieferung ist im Erscheinen begriffen. — Eine Übersicht der aus den Braunkohlenschichten vorliegenden Reste von Juglandaceen habe ich schon früher gegeben (1937a, S. 57—60).

Hu und Chaney (1938, S. 26/27; Tafel 7 Fig. 5 und 6) als *Carya miocathayensis* beschriebenen Frucht aus dem Neogen in Nordostchina besteht keine Gewißheit; selbst das Vorkommen oder Fehlen sekundärer Septen hat keine Erwähnung gefunden. Schließlich sei bemerkt, daß Brown (1946, S. 554—556) eine zu *Juglans* gehörende Fruchtform aus dem jüngeren Tertiär von Ecuador beschrieben hat. Die gegenwärtige Verbreitung der Gattung erstreckt sich zwar auch über das westliche Südamerika bis Bolivien und Nordargentinien. Indessen ist durch diesen Nachweis ihr für das Tertiär bekanntes Areal erheblich nach Süden erweitert worden.

Auch sei erwähnt, daß seit zwei Jahrzehnten mehrere Formen von Pollenexinen aus Sedimenten des Tertiärs auf Juglandaceen bezogen werden. In den deutschen Braunkohlenschichten sind die mit dem Blütenstaub von *Engelhardtia* und *Pterocarya* verglichenen Mikrofossilien besonders verbreitet. Unter ihnen dürften sich auch die Pollenexinen dieser Gattungen befinden. Indessen muß besonders die Zugehörigkeit eines Teiles der mit *Engelhardtia* verglichenen, von *Corylus* durch die geringe Größe verschiedenen Mikrofossilien bezweifelt werden. Thiergart (1940, S. 37/38) und Thomson (1949, S. 95) bewerten sie als ein „alttertiäres Element", das in den Schichten des Mittleren Miozäns zurücktritt und dem Pliozän fehlt (vgl. auch Potonié 1948, S. 377). Nach dem Zeugnis sicherer Fruchtreste hat *Engelhardtia* das Miozän überlebt und war bis in die Zeit der zum jüngeren Pliozän gehörenden *arvernensis*-Schichten in Mitteleuropa heimisch. Diese Feststellung ist geeignet, die von den erwähnten Autoren vertretene Ansicht über den Wert des „*Engelhardtia*"-Pollens als eines für das ältere Tertiär und Untere Miozän leitenden Mikrofossils zu widerlegen.

Die für das europäische Tertiär ältesten, einwandfrei von Juglandaceen-Früchten stammenden Fossilien lieferte das Untere Eozän des südöstlichen Englands. Reid und Chandler (1933, S. 140—146) haben sie als *Juglandicarya* beschrieben, ohne daß die Beziehungen der 4 Formen zu den heutigen Gattungen und untereinander geklärt werden konnten. Von ihnen zeigt die kugelige, 8 mm große *Juglandicarya Lubbockii* (Tafel 3 Fig. 1—4) eine sehr dicke glatte Schale, der Lakunen fehlen; sekundäre Septen zerlegen den Grund des Faches in 4 Segmente. Die als *Juglandicarya cantia* (Tafel 3 Fig. 5—7) abgebildete Form ist ebenfalls glatt und kugelig, besitzt aber einen Durchmesser von 12 mm. Auch in ihrer dicken Wand bemerkt man keine Lakunen. Die allein vorhandenen primären Septen zerlegen den unteren Teil des Faches in 2 Segmente. Beide Formen werden von den Autoren mit den wesentlich größeren Früchten von *Juglans* verglichen, obwohl bei dieser Gattung die Schale fast stets ± entwickelte Lakunen enthält. In allen Einzelheiten ähnliche Früchte sind mir nur von *Engelhardtia* bekannt; das glatte und kugelige, allerdings durch Verzweigung der Scheidewände abweichend septierte Perikarp der *Oreomunnea* erreicht mit 11 mm Durchmesser die Größe der Fossilien. Nach meinen Feststellungen können bei einigen *Engelhardtia*-Arten

der gegenwärtigen Flora sekundäre Septen vorhanden sein oder fehlen; auch für eine im mitteleuropäischen Tertiär verbreitete Fruchtform ist diese Eigenschaft nachgewiesen (vgl. MÄDLER 1939, S. 57). *Juglandicarya depressa* (Tafel 3 Fig. 8—13) wird mit den entflügelten Früchten von *Pterocarya* verglichen. Diese ebenfalls dickschaligen, nicht lakunösen Fossilien sind breiter als lang, in der Ebene der Dehiszenz abgeflacht und zeigen 4 ± entwickelte Kanten. Über die Beziehungen der früher als Cupressaceenrest gedeuteten *Juglandicarya crassa* (BOWERBANK) REID und CHANDLER zu den heutigen Gattungen ist kein Urteil möglich, da das Original nicht mehr vorliegt.

Seit vielen Jahrzehnten ist bekannt, daß manche Fossilien aus dem mitteleuropäischen Tertiär nicht eindeutig auf *Carya* oder *Juglans* zu beziehen sind, sondern Merkmale der Früchte beider Gattungen vereinigen. Diese Sachlage wird durch die von NAGEL (1915, S. 8/9 und 57/58) für *Juglans costata* (PRESL) UNGER, *J. ventricosa* (v. STERNBERG) BRONGNIART und andere Formen nachgewiesenen Synonyme sowie den Umstand bestätigt, daß man sie entweder mit DE CANDOLLE (1862, S. 40) als „atypisch" bezeichnet oder nach dem Vorgang von UNGER (1869, S. 52) als Arten von *Juglandites* v. STERNBERG und Stammformen beider Gattungen beschrieben hat (vgl. auch 1914, S. 498 und 529/530).

Solche „Zwischenformen" zeigen eine an die Mehrzahl der Früchte heutiger *Carya*-Arten erinnernde äußere Beschaffenheit. Diese Ähnlichkeit beruht auf der ± glatten Schale, dem häufigen Fehlen der Mittelrippenwülste und dem Vorkommen von 4 ± entwickelten Kanten, die bei *Carya* den Grenzen der Klappen des Pseudoexokarps entsprechen. Dagegen ist die Hülle der heutigen *Juglans*-Früchte nicht differenziert; nur vom Perikarp der glattschaligen *J. Sieboldiana* MAXIMOWICZ kennt man das gelegentliche Auftreten schwacher Kanten. Indessen fehlen den Fossilien dieser Gruppe die bei allen amerikanschen *Carya*-Arten mit Ausnahme der *C. olivaeformis* NUTTALL vorhandenen sekundären Septen. Ferner enthält ihr Perikarp große, symmetrisch verteilte Lakunen, die bei vielen *Juglans*-Arten der gegenwärtigen Flora auftreten und lediglich von *Carya aquatica* NUTTALL in wesentlich geringerer Entwicklung bekannt sind (Abb. 4a).

Eine „Zwischenform" habe ich als *Caryojuglans* beschrieben (1935, S. 82—85). Ihre Reste fanden sich in den während des älteren Oligozäns entstandenen Sand- und Tonschichten über den zum Mittleren Eozän gehörenden Braunkohlen des nordwestlichen Sachsens und Thüringens. Die Beschreibung, die für die als *Caryojuglans quadrangula* bezeichnete einzige Form gegeben wurde, konnte ich nach ungewöhnlich gut erhaltenen Fossilien erweitern und zum Teil berichtigen (1938, S. 622—628). Nach diesen Angaben ähnelt ihr glattschaliges, stets der

Mittelrippenwülste entbehrendes Perikarp den Früchten von *Carya* besonders durch das häufige Vorkommen von 4 Kanten. Indessen fehlen den Fossilien die für sie im allgemeinen bezeichnenden sekundären Septen. Die großen, symmetrisch verteilten Lakunen sind ein für die Verwandtschaft mit *Juglans* zeugendes Merkmal (vgl. Abb. 1a).

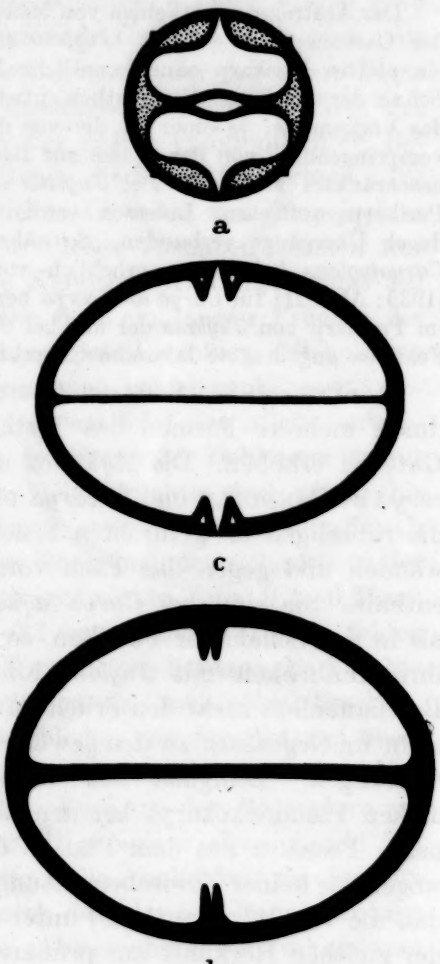


Abb. 1a—c. a *Caryojuglans quadrangula* KIRCHHEIMER aus dem älteren Oligozän Mitteldeutschlands (nach MÄDLER 1939, Abb. 18). b *Rhamphocarya integrifoliolata* KUANG (nach KUANG 1941, Tafel 1 Fig. R). c „*Carya Tsiangii* CHUN" (nach einer Fruchtklappe im Herbarium der Royal Botanical Gardens Kew). Schemata der Fruchtquerschnitte, etwa natürliche Größe.

Nach MÄDLER (1939, S. 62/63) ist *Caryojuglans* auf *Juglans* zu beziehen, da ihr den Früchten von *Carya* eigene Merkmale fehlen sollen. Jedoch wurde übersehen, daß die Mehrzahl der Fossilien in Übereinstimmung mit *Juglans costata* die am Perikarp der heutigen Arten fehlenden oder nur gelegentlich vorhandenen Kanten besitzt. Sie sind für *Carya* bezeichnend und wahrscheinlich auch bei den „Zwischenformen" als Anzeichen einer klappigen Dehiszenz des Pseudoexokarps zu bewerten. Ihr gelegentliches Fehlen ist keine Besonderheit dieser Fossilien, sondern auch vom Perikarp einiger *Carya*-Arten bekannt. Für die Früchte der heutigen Vertreter beider Gattungen sind folgende unterscheidende Me kmale zu beachten:

1. Das Vorkommen eines klappig dehiszierenden Pseudoexokarps ist auf *Carya* beschränkt. Die Früchte von *Juglans* werden entweder mit der Hülle abgeworfen oder durch ihr unregelmäßiges Aufreißen frei.

2. Die Früchte von *Carya* zeigen 4 ± entwickelte, den Grenzen der Klappen des Pseudoexokarps entsprechende Längskanten. Sie sind bei *Juglans* nur gelegentlich anzutreffen (z. B. *J. Sieboldiana*).

3. Im Perikarp von *Juglans* finden sich häufig große, symmetrisch verteilte Lakunen. Von den *Carya*-Arten zeigt nur *C. aquatica* ähnliche, aber wesentlich kleinere Gebilde.

4. Die Früchte sämtlicher *Carya*-Arten mit Ausnahme der *C. olivaeformis* und von *Rhamphocarya* besitzen sekundäre Septen. Bei *Juglans* ist ihr Fehlen verbreitet (z. B. *J. cinerea*).

Das Auftreten oder Fehlen von Mittelrippenwülsten ist für die Unterscheidung der Gattungen ohne Wert. *Juglans cordiformis* und ihre Verwandten besitzen ein glattes Perikarp ohne kenntliche Mittelrippen; sie sind an der gefurchten Schale der *Carya aquatica* deutlich entwickelt. MÄDLER (1939, S. 54/55) betrachtet das Vorkommen je einer in die von den Scheidewänden gebildeten 4 Segmente vorspringenden, von der Spitze zur Basis verlaufenden Leiste als ein auf *Carya* beschränktes Merkmal. Bei *Juglans* sollen lediglich flache Vorwölbungen des Perikarps auftreten. Indessen werden die als verschieden aufgefaßten Gebilde durch Übergänge verbunden. So nähern sich die von vielen Fundstücken der *Caryojuglans* bekannten, erheblich vorspringenden Wülste den nach MÄDLER (1939; Abb. 21) für *Carya longicarpa* bezeichnenden Leisten. Allerdings überwiegt im Perikarp von *Juglans* der nur bei *Carya aquatica* und den ihr nahestehenden Fossilien angedeutete lakunöse Charakter dieser Gebilde.

MÄDLER (1939, S. 64—68) hat *Carya aquatica* zum Typus einer durch mehrere Formen des Tertiärs vertretenen dritten Sektion der Gattung erhoben. Die *Aquatica* unterscheiden sich von den zu *Apocarya* DE CANDOLLE und *Eucarya* DE CANDOLLE gehörenden Arten durch die runzeligen bis gefurchten Früchte, deren Perikarp in den Scheidewänden und gegen das Fach vorspringenden Leisten große Lakunen enthält. Sie sind bei *Carya aquatica* wesentlich geringer entwickelt als in der Schale der Fossilien, so daß auch MÄDLER (1939, S. 64) auf ihre Ähnlichkeit mit *Juglans* hinweist. Ferner entspricht die rauhe Beschaffenheit mehr den Früchten der *cinerea*-Gruppe von *Juglans* und steht im Gegensatz zu den gewöhnlich glattschaligen Arten der anderen Gattungen. Lediglich das Vorkommen eines 4teiligen, bis 3 mm dicken Pseudoexokarps bei den als *Carya globosa* (LUDWIG) bezeichneten Fossilien aus dem Pliozän des Untermaintales hat MÄDLER bewogen, sie keiner „Zwischengattung" zuzuweisen. Übrigens sei erwähnt, daß die von MÄDLER (1939) unter *Carya longicarpa* beschriebene Form der gleichen Herkunft nur primäre Septen besitzt und in dieser Eigenschaft mit der zu *Apocarya* gehörenden *C. olivaeformis* verglichen werden kann (Abb. 4c). Sowohl *Carya longicarpa* als auch *C. globosa* besitzen eine wesentlich dickere Schale als *C. aquatica* und die auf diese heutige Art bezogenen Fossilien aus dem Pliozän des Untermaintales.

Als *Rhamphocarya integrifoliolata* beschreibt KUANG (1941, S. 1—3; Tafel 1) ein nach seiner Ansicht zwischen *Carya* und *Juglans* stehendes Gewächs der heutigen Flora des südöstlichen Yünnan[1]. Die etwa 10 m hohen und 60 cm dicken Bäume hat C. W. WANG (1940) in den mittleren Lagen der Bergwälder dieses Gebietes entdeckt (700—1000 m).

[1] Die Kenntnis der an einer derzeitig für uns unzugänglichen Stelle erschienenen Abhandlung von KUANG verdanke ich Herrn H. N. MOLDENKE und dem Entgegenkommen der Direktion des Botanischen Gartens New York.

Nach dem Vorgang von MERRILL (1948, S. 140) wird *Rhamphocarya* durch SCHOPF (1948, S. 344), JUST (1949, S. 3), LANJOUW (1950, S. 21) und andere, besonders nordamerikanische Autoren, als eine mit der 1935 beschriebenen *Caryojuglans* übereinstimmende Gattung betrachtet. An die spätere Entdeckung dieser „Zwischenform" der lebenden Flora knüpfen sich Erörterungen über die Unzulässigkeit der Priorität des an ein Fossil gebundenen Namens vor der später veröffentlichten Bezeichnung eines für gleichartig gehaltenen heutigen Gewächses. Indessen hat man die Frage der tatsächlichen Identität von *Caryojuglans* und *Rhamphocarya* nicht geprüft. Für dieses Vorhaben können nur die Früchte verwendet werden, da die Kenntnis der *Caryojuglans* auf ihre Beschaffenheit beschränkt ist. Die 6—8 cm langen Früchte der *Rhamphocarya* sind von einem 4—6teiligen Pseudoexokarp mit holzigen 0,5—0,9 cm dicken, am Grunde verbundenen gekielten Klappen umgeben. Der größte Durchmesser von 4—5 cm folgt den allein vorhandenen primären Septen; die Breite in der Ebene der Dehiszenz ist mit ungefähr 3,8—4,5 cm etwas geri ger. Die Früchte sind netzig bis schwach gefurcht und zeigen eine lange, etwas abgesetzte, schwach 4—6kantige Spitze. An der gerundeten Basis befindet sich eine in der Ebene der Dehiszenz auf 1,5—1,7 cm gestreckte, nur 0,2—0,25 cm breite Narbe. Dem lediglich 0,15—0,2 cm dicken Perikarp fehlen Lakunen (vgl. Abb. 1b). Nach diesen Einzelheiten besitzen die Früchte der *Rhamphocarya* keine Ähnlichkeit mit den als *Caryojuglans* beschriebenen Fossilien. Vielmehr bestehen erhebliche, von den Autoren übersehene Unterschiede. Besonders ist auf das im Verhältnis zu der überragenden Größe der Früchte sehr dünne Perikarp der *Rhamphocarya*, das Fehlen der Lakunen und die von *Caryojuglans* abweichende Beschaffenheit der Ansatzstelle hinzuweisen. Die Ähnlichkeit der Früchte von *Rhamphocarya* und *Carya* wird durch das klappige Pseudoexokarp bestimmt. Allerdings entspricht die Abwesenheit der sekundären Septen keinesfalls der Mehrzahl ihrer heutigen Arten.

Durch das Entgegenkommen der Direktion der Royal Botanical Gardens Kew erhielt ich ein von CHUN am 9. 8. 30 als *Carya Tsiangii* n. sp. beschriftetes Herbarexemplar, das einem in der südchinesischen Provinz Kweischou wachsenden, 13 m hohen Baum entstammt (leg. TSIANG Nr. 6369). Offenbar war HJELMQUIST von der Identität dieser Art mit *Rhamphocarya integrifoliolata* KUANG überzeugt, da der Bogen die Bezeichnung „*Carya integrifoliolata* (KUANG) m." trägt (1949). Das gleiche Herbarexemplar hat LEROY im Jahre 1950 als „*Annamocarya sinensis* (DODE) m." beschriftet. Vorhanden ist eine vom Pseudoexokarp umgebene Klappe einer 5,5 cm langen, in der Ebene der Dehiszenz bis 3,2 cm breiten Frucht; sie zeigt die deutlich abgesetzte, 1,2 cm lange Spitze. Sowohl das Perikarp als auch das allein vorhandene sekundäre Septum besitzen eine im Vergleich zu der Größe der Frucht auffallend geringe Dicke. Die Spaltfläche wird in jedem Segment von einer ihr genäherten, mit einem unbedeutenden Hohlraum versehenen schwachen Längsleiste begleitet (Abb. 1c). Das Pseudoexokarp ist 0,7 cm dick und läßt die Anzeichen einer klappigen Dehiszenz erkennen. Nach diesen Einzelheiten und der

Beschaffenheit eines ebenfalls vorliegenden, unpaarig gefiederten 9teiligen Blattes ist an der artlichen Identität von „*Carya Tsiangii* CHUN" und *Rhamphocarya integrifoliolata* KUANG nicht zu zweifeln. Dagegen vermag ich nicht zu entscheiden, ob die im gleichen Gebiet heimische *Carya sinensis* DODE mit diesem Gewächs übereinstimmt. KUANG (1941) ist auf die Möglichkeit dieses Zusammenhanges nicht eingegangen[1].

Einer Ankündigung über den Inhalt der demnächst erscheinenden B. SAHNI-Gedächtnisschrift des Institutes für Paläobotanik in Lucknow ist zu entnehmen, daß HU unter dem Titel „On a living species of *Juglandicarya* found in South Yunnan" offenbar über das als *Rhamphocarya* bezeichnete Gewächs zu berichten gedenkt. Die angedeutete Beziehung zu den von REID und CHANDLER (1933) beschriebenen, auf S. 529 und 530 erwähnten Fossilien aus dem Londonton kann nach meinen Darlegungen über ihre Beschaffenheit nicht bestätigt werden.

Nach dieser Sachlage entbehren die erwähnten, auf der Identität von *Caryojuglans* und *Rhamphocarya* begründeten Erörterungen über ein nomenklatorisches Problem der Berechtigung. Die geringe Zahl der zeitlichen Prioritäten der für einstige Gewächse errichteten Gattungen gegenüber den späteren Namen der als übereinstimmend betrachteten heutigen Pflanzen muß nicht nur durch diesen Fall eine Reduktion erfahren. Im älteren Schrifttum ist wiederholt erwähnt, daß die von PRESL (in v. STERNBERG 1838, S. 202) unter *Steinhauera* beschriebenen zapfenartigen Fossilien zu *Sequoia* ENDLICHER (1847, S. 197/198) gehören. POTONIÉ (1909, S. 534) hat eine Priorität abgeleitet und auf ihre Bedeutung für die Nomenklatur hingewiesen. Von NATHORST (1910, S. 54—56) wurde zutreffend bemerkt, daß die Fossilien keine Identität von *Sequoia* und *Steinhauera* anzeigen (vgl. auch S. 61/62). Ferner hat DAYTON (1943, S. 217) die Verwendung von *Steinhauera* für *Sequoia* mit einer ähnlichen Begründung zurückgewiesen; es erübrigt sich, *Sequoia* weiter in der Liste der „nomina conservanda" zu führen, da *Steinhauera* unanwendbar ist[2]. Im gleichen Jahr konnte ich zeigen, daß PRESL als Typus der *Steinhauera* die Reste der Fruchtstände von *Liquidambar* beschrieben hat (1943, S. 216—236). Andere Fossilien dieses Namens dürften zwar auf Zapfen zurückgehen, erlauben aber keine einwandfreie Zuweisung. Demnach besteht tatsächlich keine Veranlassung, die Priorität von *Steinhauera* weiter zu erörtern[3]. Von den im neuesten Schrifttum wiederholten Beispielen für

[1] Die an das Herbarexemplar der Royal Botanical Gardens Kew geknüpften Bemerkungen haben meines Wissens noch keine Erwähnung im Schrifttum gefunden. Herr K. SUESSENGUTH (München) teilt mir mit, daß in einem Supplement des „Kew Index" lediglich *Carya sinensis* als ein Synonym von *Annamocarya sinensis* nachgewiesen wird.

[2] Die Abhandlung von DAYTON ist mir durch die Freundlichkeit von H. N. MOLDENKE (New York) zur Kenntnis gelangt.

[3] LITTLE (1943, S. 133) hat diese Sachlage vernachlässigt und erwähnt neuerdings die früher behauptete Identität von *Sequoia* und *Steinhauera*.

eine Priorität der Gattungsnamen von Fossilien der Angiospermen verbleibt nur *Petrophiloides* BOWERBANK vor *Platycarya* (vgl. S. 527).

Obwohl *Rhamphocarya* weder mit *Caryojuglans* übereinstimmt noch Beziehungen zu den ebenfalls nach Fruchtresten aufgestellten anderen „Zwischenformen" des Tertiärs aufweist, ist sie ein bemerkenswertes Gewächs. Auch ihr Vorkommen bestätigt die Ansicht, daß in der gegenwärtigen Flora des mittleren und südlichen Chinas viele altertümliche Formen überleben. Die Entdeckung des heutigen Auftretens der während des Tertiärs verbreiteten *Metasequoia* MIKI ist ein ähnlicher Befund aus der jüngsten Zeit.

Antweileria n. gen.

Der Basiston des Tertiärs der am Nordabfall der Eifel südlich Euskirchen gelegenen Senke von Antweiler hat kohlig erhaltene Fruchtreste der Juglandaceen und Mastixioideen geliefert. Die Mehrzahl der in einer Tongrube unweit Firmenich gefundenen Fossilien habe ich im Rahmen einer Abhandlung über das Alter des Vorkommens beschrieben (vgl. 1951a). Bei dieser Gelegenheit wurde mitgeteilt, daß auch der Rest einer erloschenen Gattung der Juglandaceen vorliegt. Der durch das Auftreten von *Juglans* und einer Form der Mastixioideen bezeichnete Basiston des Tertiärs in der Senke von Antweiler ist den „tonig liegenden Schichten" des Siebengebirges zeitlich ungefähr gleichzusetzen. Entgegen einer früheren Ansicht gehört das Vorkommen nicht in das Eozän, sondern muß dem älteren Oligozän eingeordnet werden.

Von Firmenich sind mir besonders Fossilien der *Juglans ventricosa* und einer Form der *tephrodes*-Gruppe bekannt. Ein weiteres Fundstück ist von den Früchten dieser Gattung und der *Carya* wesentlich verschieden. Seine Schale enthält erstaunlich große Lakunen, deren dünne Wände das Fach zu schmalen Spalten einengen. Dieses den Früchten der heutigen Arten beider Gattungen und ihrer aus dem Tertiär bekannten Formen auch äußerlich nur begrenzt ähnliche Fossil habe ich nach seiner Herkunft als *Antweileria* bezeichnet. Aus der Beschreibung der einzigen Art sind die Merkmale der neuen Gattung zu entnehmen. Das Belegstück befindet sich in der Sammlung des Geologischen Landesamtes für Nordrhein-Westfalen zu Krefeld und ist mir von Herrn P. W. THOMSON dankenswerterweise für die nähere Untersuchung überlassen worden.

Antweileria caryoides n. sp.
(Abb. 2 und 3).

Glattschalige Juglandaceen-Fruchtform mit kleiner, etwas schiefer Spitze und warzenartig erhabener, deutlich begrenzter Ansatzstelle. Perikarp mit ungewöhnlich großen, das Fach äußerst einengenden dünnwandigen Lakunen; sekundäre Septen fehlen.

Das kohlig erhaltene Fossil ist 2,65 cm lang und bis 1,8 cm breit. In der Ebene der Dehiszenz beträgt der Durchmesser gegenwärtig nur 12 mm; aus der wenig verschobenen Lage der inneren Wände der großen

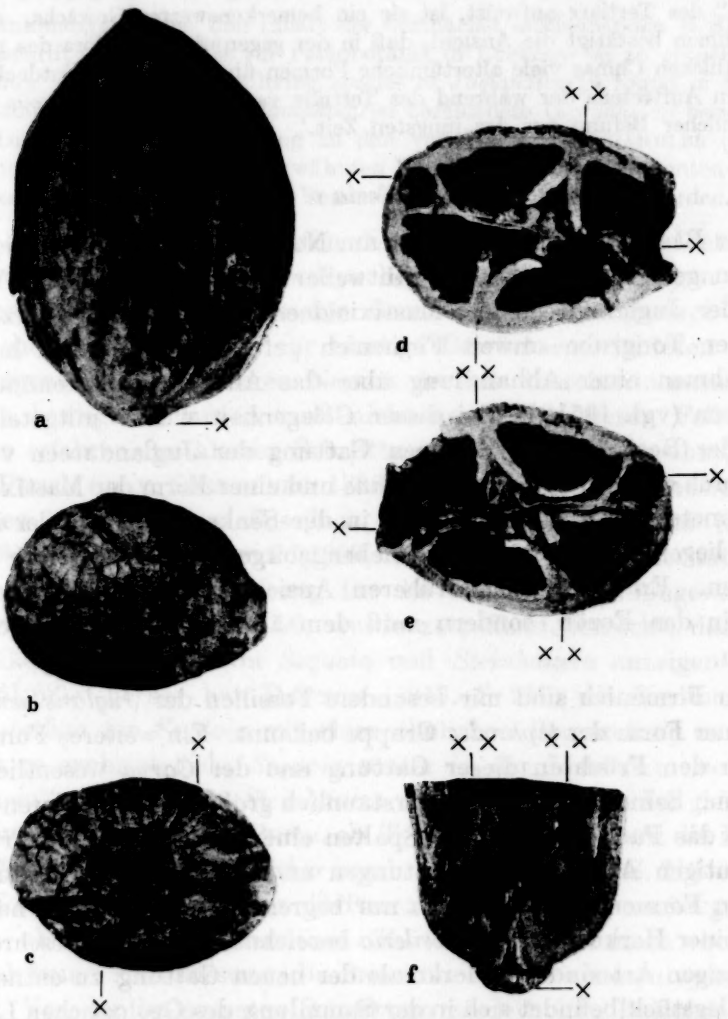


Abb. 2a—f. *Antweilcria caryoides* n. gen. et sp. aus dem Basiston des Grabens von Antweiler im Rheinland (etwa 2,6mal vergr.; vgl. Abb. 3). a Gesamtansicht der Frucht; bei × erkennt man die hervortretende Ansatzstelle; der von ihr zur etwas schiefen Spitze ziehende Spalt trennt die beiden Klappen. b Spitze der Frucht. c Basis der Frucht mit der großen, hervortretenden Ansatzstelle; bei × befindet sich der die Klappen trennende Spalt. d und e In der Mitte der Frucht geführte Querschnitte mit den großen, vom lockeren Füllgewebe befreiten Lakunen des Perikarps; × bezeichnet die Lage der dünnen primären Septen, deren beiderseitige Ansatzstellen je eine große rundliche Lakune enthalten; ×× die Lage der Spaltebene; die Wände der sie begleitenden großen Lakunen sind zum Teil zerstört. f Die untere Hälfte einer Klappe; bei × befindet sich die hervortretende Ansatzstelle, an der die Mittelsäule haftet; die Wände ×× der Lakunen erscheinen scheidewandartig.

Lakunen ist zu entnehmen, daß lediglich eine geringfügige nachträgliche Abflachung vorliegt und die ursprüngliche Breite daselbst etwa

1,4 cm betragen haben muß. Die Oberfläche zeigt sehr seichte unregelmäßige, zum Teil verbundene Längsrunzeln. Den Mittelrippen der Fruchtblätter entsprechende Wülste fehlen; lediglich ein feiner, umlaufender Riß zeugt von der Form der Dehiszenz der Frucht durch den Zerfall in 2 Klappen. Zum kleinen, etwas schief aufgesetzten Spitzchen ist sie verjüngt. Im oberen Teil bemerkt man die Andeutung einer 4kantigen Beschaffenheit, bedingt durch je 2 am Rücken der Klappen entwickelte, sehr schwache Längskanten. Die gerundete Basis ist mit einer gegen sie deutlich abgesetzten, ungefähr warzenförmigen, um 0,15 cm erhabenen Ansatzstelle von etwa rechteckiger Gestalt versehen. Der größte Durchmesser dieses auffallenden Gebildes beträgt 0,6 cm und liegt in der Ebene der primären Septen; senkrecht zu ihr erreicht seine Breite nur 0,45 cm.

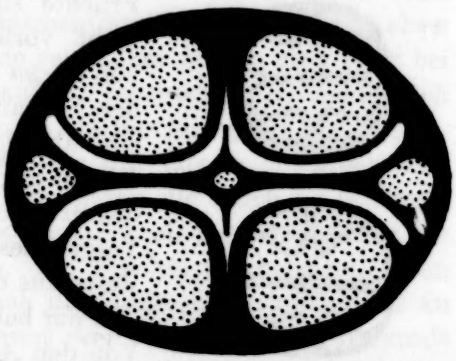


Abb. 3. *Antweileria caryoides* n. gen. et sp. (Schema des Fruchtquerschnittes, etwa 3mal vergr.; vgl. Abb. 2).

Der Querschnitt wird von den ungewöhnlich großen, mit lockerem Gewebe ausgefüllten Lakunen des etwa 0,15 cm dicken Perikarps bestimmt (vgl. Abb. 2d und e; Abb. 3). Die allein vorhandenen primären Septen reichen bis in das obere Drittel der Frucht und treten daselbst gegen die Wand zurück. Sie sind lediglich 0,08 cm dick und haften an der 4kantigen, mit der subapikalen Plazenta versehenen Mittelsäule. Im Bereich ihrer Ansatzstellen zeigt die Außenwand je eine in der Mitte bis 0,2 cm breite, nach oben und unten verschwindende runde dissepimentale Lakune. Die in der Spaltebene liegenden Kanten der Mittelsäule sind um je 0,2 cm flügelartig verlängert, so daß sie Ansätze zu sekundären Septen vortäuschen. Das zur Plazenta aufsteigende Leitbündel durchzieht die das warzenartige Gebilde der Basis fortsetzende Mittelsäule innerhalb eines lockeren Gewebes. Die 4 großen Lakunen füllen bedeutende Wülste des Perikarps und besitzen etwa 0,1 cm dicke Wände. Sie haften unmittelbar neben den Ansatzstellen der primären Septen und nähern sich ihnen beiderseits bis auf je 0,08 cm (vgl. Abb. 3). In der Ebene der Dehiszenz begleiten die Wände der Lakunen die Spaltfläche der Klappen; gegen die Mittelsäule weichen sie etwas auseinander. Die Lakunen sind längs der Septen etwa 0,6 cm breit. Ihr der Spaltebene genäherter kleinerer Durchmesser beträgt ungefähr 0,4 cm. Durch die starke Entwicklung der Lakunen ist dem Samen ein nur geringer Raum verblieben. Im unteren Teil der Frucht beschränkt sich das Fach auf zwei schmale Spalten zu beiden Seiten der

primären Septen und den durch die Divergenz der Lakunenwände freien, allerdings von den flügelartigen Kanten der Mittelsäule eingeschränkten Raum. Lediglich unmittelbar unter der Spitze erweitert sich das Fach, da daselbst die von den Lakunen ausgefüllten Wülste und die primären Septen zurücktreten. Die Spaltfläche der Klappen ist in der Mitte ungefähr 0,2 cm breit. Von innen gesehen erscheinen sie durch die ihr angesetzten Wände der großen Lakunen nahezu vollkommen gefächert.

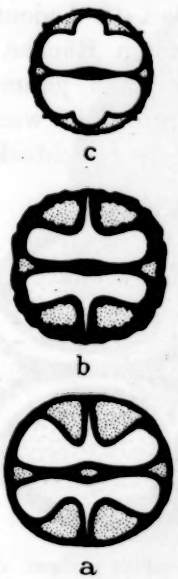


Abb. 4 a c. a *Juglans ventricosa* (v. STERNBERG) BRONGNIART aus der Braunkohle von Salzhausen im Vogelsberg (nach KIRCHHEIMER 1936, Abb. 2). b *Juglans lacrymabunda* (KOENIG) KIRCHHEIMER aus der „Blauen Erde" des Samlandes (nach KIRCHHEIMER 1937 b, Abb. 2). c *Carya longicarpa* MÄDLER aus dem Pliozän des Untermaintales (nach MÄDLER 1939, Abb. 21). Schemata der Fruchtquerschnitte, etwa natürliche Größe

Dem Fossil selbst nur äußerlich vergleichbare Früchte sind bei den heutigen Juglandaceen nicht vorhanden. Die glattschaligen Formen von *Carya* und ostasiatischer *Juglans*-Arten aus der Verwandtschaft der *J. Sieboldiana* besitzen eine abweichende Gestalt. Der innere Bau des Fossils zeigt erhebliche Unterschiede gegenüber diesen Früchten, so daß keine Möglichkeit eines Vergleiches besteht. Einige zu *Carya* gestellte Reste aus dem Pliozän des Untermaintales sind ihm nur bei oberflächlicher Betrachtung ähnlich. Von den *Aquatica* ist die durch das Fehlen der sekundären Septen merkwürdige *Carya longicarpa* MÄDLER (1939, S. 67; Tafel 6 Fig. 9 und 10) zu erwähnen. Allerdings zeigt die 0,05—0,1 cm dicke Schale der 2—2,7 cm langen, an beiden Enden etwas zugespitzten Früchte deutliche Längsrunzeln und 4 wesentlich auffallendere Kanten. Sie enthält im Vergleich zu *Antweileria* nur sehr kleine Lakunen, die in den 4 gegen das Fach einspringenden Leisten auftreten (vgl. Abb. 4 c). Ferner zeigt die Ansatzstelle eine von ihr abweichende Beschaffenheit. Von den *Eucarya*-Formen des Vorkommens sind die auf *Carya tomentosa* NUTTALL bezogenen Fossilien ebenfalls lediglich äußerlich entfernt ähnlich (MÄDLER 1939 S. 70/71; Tafel 6 Fig. 14 und 15). Sie enthalten im Gegensatz zu *Antweileria* sekundäre Septen. Die 4 Innenleisten der 0,1—0,15 cm dicken, fast glatten Schale führen lediglich winzige Lakunen. Von den zu *Juglans* gestellten Fossilien ist nur die von mir als *J. Schweiggeri* (GÖPPERT et BERENDT) bezeichnete Form aus der „Blauen Erde" des Samlandes der *Antweileria* nicht unähnlich, besitzt aber eine wesentlich längere, abweichend gestaltete Spitze (1937 b, S. 460—463; Tafel 7

Fig. 2)[1]. Indessen teilt sie mit *Antweileria* den Besitz einer warzenartig erhabenen, wenn auch nicht so deutlich gegen die Basis abgegrenzten Ansatzstelle. Das fast glatte, bis 0,2 cm dicke Perikarp zeigt längs der Spaltfläche vier nach innen vorgewölbte hohle Einfaltungen, die das nur von primären Septen zerlegte Fach einengen. Sie sind wesentlich kleiner als die bei *Antweileria* durch die großen Lakunen auffallenden gleichartigen Gebilde (vgl. Abb. 4b).

Abschließend sei die Frage erörtert, ob die Merkmale des Fossils seine Deutung als Rest einer erloschenen Form rechtfertigen oder die Vereinigung mit einer Gattung der heutigen Flora ermöglichen. Ohne Zweifel ist *Antweileria* keine „Zwischenform" im Sinne der alten Autoren. Glattschalige Früchte ohne sekundäre Septen sind zwar bei Arten von *Carya* und *Juglans* vorhanden. Indessen unterscheidet sich das Fossil von beiden Gattungen durch die Beschaffenheit der Ansatzstelle und die großen, selbst bei *Juglans* nirgends in entsprechender Ausdehnung vorhandenen Lakunen. Besonders die durch sie bedingte, weitgehende Einschränkung des Faches kennzeichnet *Antweileria* als den Rest einer selbständigen Form. Die Früchte der heutigen Arten von *Carya* und *Juglans* können nach den äußeren Merkmalen als zu den Juglandaceen gehörend bestimmt werden. Über die Herkunft der *Antweileria* war ich vor dem Zerschneiden des Fundstückes völlig im unklaren. Diese Besonderheit gegenüber den Früchten der lebenden Gewächse ist ebenfalls geeignet, auf ihren abweichenden Charakter hinzuweisen. Für die Aufstellung erloschener Gattungen habe ich die Beachtung bestimmter Grundsätze gefordert[2]. Das als *Antweileria* beschriebene Fossil dürfte ihnen innerhalb der durch den Bauplan der Juglandaceen-Frucht gegebenen Möglichkeiten entsprechen.

Zusammenfassung.

In einer dem älteren Oligozän angehörenden Ablagerung des Rheinlandes fand sich der kohlig erhaltene Fruchtrest einer erloschenen Gattung der Juglandaceen. Das als *Antweileria caryoides* beschriebene Fossil ist den Früchten von *Carya* und *Juglans* nur beschränkt ähnlich. Seine Basis zeigt eine für die heutigen Vertreter dieser Gattungen ungewöhnliche Beschaffenheit. Der bedeutsamste Unterschied gegenüber ihren Früchten besteht in dem Vorkommen

[1] Diese Art muß *Juglans lacrymabunda* (Koenig) benannt werden, da Koenig sie schon 1825 unter *Lampetia* vel *Phaëtusa lacrymabunda* abgebildet hat (S. 2; Tafel 2 Fig. 23a und b).

[2] Vgl. den betreffenden Abschnitt in der ersten Lieferung meines auf S. 528 nachgewiesenen Werkes (1951b).

riesiger Lakunen, deren Wände das Fach der *Antweileria caryoides* äußerst einengen.

Die Erörterung der Verwandtschaftsverhältnisse von *Antweileria* wird durch eine Übersicht der auf erloschene Gattungen der Juglandaceen bezogenen Fossilien vorbereitet. Ferner beschäftigt sich diese Darstellung mit einer vermeintlichen „Zwischenform" von *Carya* und *Juglans* aus der gegenwärtigen Flora des südlichen Chinas. Ihre Frucht ist entgegen einer mehrfach geäußerten, die Identität behauptenden Ansicht von der im älteren Oligozän Mitteldeutschlands vorkommenden *Caryojuglans* wesentlich verschieden.

Literatur.

BOWERBANK: History of the fossil fruits and seeds of the London Clay. London 1840. — BROWN: Walnuts from the late Tertiary of Ecuador. Amer. J. Sci., V. s. **44** (1946). — DE CANDOLLE: Mémoire sur la famille des Juglandacées. Ann. Sci. natur. bot., IV. s. **18** (1862). — DAYTON: The name of the giant *Sequoia*. Leafl. Western Bot. **3** (1943). — ENDLICHER: Synopsis Coniferarum fossilium. St. Gallen 1847. — HU and CHANEY: A Miocene flora from Shantung Province, China. Carnegie Inst. Washington Publ. **507** (1938). — JUST: American proposals concerning Paleobotanical Nomenclature. Chicago 1949. — KIRCHHEIMER: Bau und botanische Zugehörigkeit von Pflanzenresten aus deutschen Braunkohlen. Bot. Jb. Systematik usw. **67** (1935). — Beiträge zur Kenntnis der Tertiärflora. Palaeontogr., B **82** (1936). — Grundzüge einer Pflanzenkunde der deutschen Braunkohlen. Halle a. d. S. 1937a (1936 erschienen). — Beiträge zur Kenntnis der Flora des baltischen Bernsteins I. Beih. bot. Cbl., B **57** (1937b). — Ein Beitrag zur Kenntnis der Alttertiärflora des Harzvorlandes. Planta (Berl.) **27** (1938). — Über *Steinhauera subglobosa* PRESL und die Reste von *Liquidambar*-Fruchtständen aus dem Tertiär Mitteleuropas. Neues Jb. Mineral., Geol. Paläont. **1943**, Monatsh. B (1943). — Über das Alter des Tertiärs im Graben von Antweiler (Rheinland). Neues Jb. Mineral., Geol. Paläont. **1951**, Monatsh. B (1951a). — Die Laubgewächse des mitteleuropäischen Tertiärs. Nottuln i. W. 1951b. — KOENIG: Icones fossilium sectiles. London 1825 (II. Centurie, nicht im Buchhandel erschienen). — KUANG: Genus novum Juglandacearum ex austroorientali Yunnan. Icon. fl. Sin. **1** (1941). — LANJOUW: Synopsis of proposals concerning the International Rules of Botanical Nomenclature. Utrecht 1950. — LEHNER: Studien über die heutige Verbreitung mitteleuropäischer Tertiärpflanze und die Ursache des Verbreitungswechsels. Diss. München 1944. — LITTLE: Homonyms among names of trees and fossil plants. J. Washington Acad. Sci. **33** (1943). — MÄDLER: Die pliozäne Flora von Frankfurt a. M. Abh. Senckenberg. naturforsch. Ges. **446** (1939). — MERRILL: A living *Metasequoia* in China. Science (Lancaster, Pa.) **107** (1948). — MIKI: Plant fossils from the *Stegodon* beds and the *Elephas* beds near Akashi. Jap. J. of Bot. 8 (1937). — On the change of flora in Eastern Asia since the Tertiary period I. Jap. J. of Bot. **11** (1941). — Floral remains in Kinki and adjacent district since the Pliocene. Kyoto 1948. — A study of floral remains in Japan since the Pliocene. Sci. Rept. Osaka Lit. Arts Univ. **1** (1950). — NAGEL: Studien über die Familie der Juglandaceen. Bot. Jb. Systematik usw. **50** (1914). — Juglandaceae. Foss. Catalogus II, **6** (1915). — NATHORST: Bemerkungen über die für den internationalen botanischen Brüsseler Kongreß 1910 gemachten Vorschläge zur Regelung der paläobotanischen Nomenklatur. Bot. Notiser f. 1910

(1910). — OISHI: A note on the genus *Engelhardtia* and its occurence in the Paleogene of Korea. J. Geolog. Soc. Jap. **43** (1936). — PERKINS: On the lignite or brown coal of Brandon (Vermont), and its fossils. Rept. Vermont St. Geologist f. 1903/04 (1905). — POTONIÉ (H.): Vorschläge zur Regelung der paläobotanischen Nomenklatur. Jb. Preuß. Geol. Landesanst. **30** (1909). — POTONIÉ, (R.): Stand der mikropaläobotanischen Tertiärstratigraphie. Z. dtsch. geol. Ges. **100** (1948; erschienen 1950). — REID and CHANDLER: The Bembridge flora. London 1926. — The London Clay flora. London 1933. — SCHMUCKER: Die Baumarten der nördlichgemäßigten Zone und ihre Verbreitung. Silv. orbis **4** (1942). — SCHOPF: Should there be a living *Metasequoia?* Science (Lancaster, Pa.) **107** (1948). — SIEBOLD u. ZUCCARINI: Plantarum, quas in Japonia collegit Dr. DE SIEBOLD I. Abh. bayr. Akad. Wiss., Math.-physik. Kl. **3** (1843). — STERNBERG, v.: Versuch einer geognostisch-botanischen Darstellung der Flora der Vorwelt II. Prag 1838 (auch in einer von F. G. DE BRAY besorgten franz. Übersetzung erschienen; Prag 1840). — THIERGART: Die Mikropaläontologie als Pollenanalyse im Dienst der Braunkohlenforschung. Schr. Brennstoffgeol. **13** (1940). — THOMSON: Alttertiäre Elemente in der Pollenflora der rheinischen Braunkohle und einige stratigraphisch wichtige Pollenformen derselben. Palaeontogr., B **90** (1949). — UNGER: Geologie der europäischen Waldbäume I. Mitt. naturwiss. Ver. Steiermark **2** (1869).

Prof. Dr. FRANZ KIRCHHEIMER, Freiburg i. Br., Elsässerstr. 2.

Planta, Bd. 39, S. 542—569 (1951).

Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich.

DIE URSACHEN DER VERMINDERTEN FERTILITÄT VON ELODEA-ARTEN.

Von

M. ERNST-SCHWARZENBACH.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. April 1951.)

1. Einleitung.

Eine Besonderheit vieler im Wasser lebender Blütenpflanzen ist ihre Sterilität oder verminderte Fertilität. Ihre vegetative Vermehrung durch Ausläufer, Brutknospen oder häufig einfacher durch abgebrochene Sproßteile erlaubt ihnen, auch wenn sie durch keine oder nahezu keine sexuelle Fortpflanzung ergänzt wird, eine sehr starke Verbreitung. Losgelöste Sproßteile vermögen vom Wasser als Medium während längerer Zeit transportiert zu werden, ohne Schaden zu nehmen. Die Ausbildung von Blüten und Geschlechtsorganen erscheint daher für Wasserpflanzen als biologischer Luxus.

Doch gilt dies nur vom Standpunkt der Art-*Erhaltung*, für die Art-*Bildung* bedeutet der Ausfall geschlechtlicher Vermehrung durchwegs einen großen Verlust. Mutationen in generativen Teilen können nicht entstehen und vegetativ entstandene Mutanten können nicht durch Bastardierung miteinander kombiniert werden, so daß Formenneubildung und Evolution sehr gehemmt sind. Zu diesen häufig vermindert fertilen oder nahezu sterilen Wasserpflanzen gehören denn auch eine große Zahl von Gattungen, die zwar weit verbreitet sind, aber nur in einer oder ganz wenigen Arten vorkommen, z. B. *Halophila*, *Thalassia*, *Acorus*, *Hydrocharis*, *Stratiotes*, *Butomus*.

Worauf die verminderte Fertilität der Wasserpflanzen beruht, ist in den meisten Fällen noch völlig unabgeklärt. Eine Ausnahme bilden die Resultate der Untersuchungen von H. D. WULFF (1940/41), der nachgewiesen hat, daß die sterilen europäisch-westasiatischen Rassen von *Acorus Calamus* triploid sind. Sehr selten fruchtende Formen zu untersuchen, gelingt nur ausnahmsweise, wenn man das Glück hat zufällig blühende Individuen zu finden. So muß man sich wohl an die Formen halten, die nur eine verminderte Fertilität zeigen und aus deren Vergleich mit den vollfertilen Verwandten Entwicklungsreihen ableiten, welche eventuell auch die sterilen Formen zu deuten erlauben.

Wenn wir nun die Reduktionen der Fertilität der Wasserpflanzen am Beispiel der Hydrocharitaceen, speziell der Gattung *Elodea*, unter-

suchen wollen, so bietet uns dieser Formenkreis Möglichkeiten, das Problem der Sterilität noch von einem besonderen Gesichtspunkt aus zu erfassen. Einige Arten dieser Gattung, so *Elodea canadensis* MICHX. und *Elodea occidentalis* ST. JOHN, gehören zu den wenigen Angiospermen, deren *Pollenkörner im Tetradenverband bleibend* zur Bestäubung gelangen. Nach der Reduktionsteilung der Kerne und der Tetradenbildung bleiben die Pollenkörner derselben Tetrade noch im offenen Antherenfach aneinander kleben und schwimmen auch als Tetraden, die sehr schwer benetzbar sind, auf der Wasserfläche zu den ♀ Blüten hin. Auch bei *Lagarosiphon muscoides* HARV., die zu Vergleichen herangezogen wird, kann festgestellt werden, welche Pollenkörner aus derselben Tetrade stammen. Hier liegt dies daran, daß je Antherenfach nur eine Pollenmutterzelle zur Entwicklung gelangt und also in jedem Antherenfach nur die 4 Pollenkörner einer Tetrade in einer Reihe nebeneinander liegen und durch eine klebrige Schicht mit der Wand der offenen Anthere verbunden sind (M. ERNST-SCHWARZENBACH 1945b).

STRASBURGER (1910, S. 441) wollte in seinen klassischen Versuchen zur Bestimmung der Geschlechtstendenz der Pollenkörner mit *Elodea* Tetradenanalysen durchführen. Er belegte die Narben ♀ Blüten seiner Versuchspflanzen zu diesem Zweck mit nur je einer einzigen Tetrade von Pollen derselben Art. Seine Versuche scheiterten daran, daß er nie mehr als 2 Samen je Frucht erhielt.

Im Zusammenhang mit Hydrocharitaceen-Kreuzungsversuchen auf breiterer Basis versuchte ich ebenfalls solche Tetradenanalysen. In der Hoffnung, durch Wahl einer anderen Art nicht auf die gleichen Schwierigkeiten zu stoßen wie STRASBURGER, wurde *E. canadensis* aus dem St. Lorenzstrom als ♀ Blüte verwendet und teils mit derselben Art teils mit *E. occidentalis* bestäubt. Schon die Vorversuche waren eher entmutigend: 62 Bestäubungen von *E. canadensis* mit *viel* Pollen von *E. occidentalis* ergaben 37 Früchte, deren 5 je 3 Samen, die anderen alle nur 1—2 Samen enthielten. 59 mit nur *einer Tetrade* bestäubte Blüten ergaben nur 5 Früchte, von denen 4 nur 1, 1 nur 2 Samen enthielten. Keine der Bestäubungen mit nur einer Tetrade ergab die zur Analyse unerläßliche Zahl von 3 Samen. 44 Kreuzbestäubungen von ♀ Blüten von *E. occidentalis* mit *viel* Pollen von *E. canadensis* ergaben mehr Samen je Frucht: 2 Früchte enthielten 5, 4 Früchte je 4 und 9 Früchte je 3 Samen. Daraufhin wurden die Tetradenanalysenversuche vorläufig abgebrochen um der Frage nachzugehen, warum wohl die Fertilität der *Elodea*-Bestäubungen eine so geringe sei.

Die Frage nach der Ursache dieser geringen Fertilität ist schon von anderen Autoren aufgegriffen aber, wie mir scheint, nie gründlich bearbeitet worden. WYLIE schrieb schon 1904, daß von den 4 Pollenkörnern derselben Tetrade nur 1—2 keimten, und SANTOS behauptete 1924, daß

von den 4 Pollenkörnern derselben Tetrade je 2 etwas größer seien als die beiden anderen. Nach diesen Angaben war anzunehmen, daß die Ursache der geringen Fertilität im Pollen zu suchen sei. Immerhin weist die Tatsache, daß auch nach reichlicher Bestäubung nur ein Teil der Samenanlagen befruchtet wird, auf die Möglichkeit einer gewissen Sterilität der Samenanlagen hin.

2. Material und Kulturmethoden.

Die Untersuchungen wurden durchgeführt an:

1. ♂ und ♀ Pflanzen von *Elodea canadensis* MICHX. aus dem St. Lorenzstrom bei Longenil, die mir FRÈRE MARIE-VICTORIN vom Botanischen Institut der Universität Montreal im Herbst 1933 lebend geschickt hat. 2. Von Prof. FITTING im Mai 1933 aus dem Botanischen Garten Bonn erhaltenen ♂ und ♀ *Elodea*-Pflanzen, welche wohl Nachkommen der von STRASBURGER im selben Institut kultivierten, von CHAMBERLAIN aus dem Wolf Lake bei Chicago bezogenen *Elodea* sind. Diese wurden von HAROLD ST. JOHN als *Elodea occidentalis* ST. JOHN bestimmt. 3. ♂ und ♀ Pflanzen von *Lagarosiphon muscoides* HARV. aus Transvaal, die mir Miß STEPHENS vom Botanischen Institut der Universität Kapstadt im Januar 1938 lebend geschickt hat. 4. ♀ Blüten von *Elodea canadensis* aus der Glatt bei Zürich. 5. ♀ Blüten von *Elodea callitrichoides* CASP. aus dem Botanischen Garten Bonn. 6. ♂ Blüten von *Hydrilla verticillata* (L. fil.) CASP., von der ich 1930/31 aus dem See von Yünnanfu einige Samen heimgebracht hatte.

Die Blütenbiologie dieser Arten wurde bereits früher (vgl. M. ERNST-SCHWARZENBACH 1945b) dargestellt, ebenso Kreuzungsversuche zwischen diesen und anderen Arten von Hydrocharitaceen der Unterfamilie *Vallisnerioideae* (vgl. M. ERNST-SCHWARZENBACH 1945a).

Im Sommer wurden die Pflanzen in Fässern im Freien, auf einem Gemisch von Laub-, Wald-, Moorerde und Lehm, im stehenden Wasser gezogen. Zur Überwinterung und als Reserve wurden sie im Institut in Gläsern gehalten. Die genannten Arten sind zwar winterfest (vgl. M. ERNST-SCHWARZENBACH 1945a), für andere Zwecke gezogene Arten aber nicht, so daß es praktischer für die Versuche und sicherer zur Erhaltung der Reinheit der Kulturen schien, jedes Frühjahr neue Kulturen in frisch hergerichteten Fässern anzulegen.

3. Die Frage nach der Ursache der geringen Fertilität von *Elodea*-Bestäubungen.

Unter *Fertilität und Sterilität* verstehen wir ganz allgemein die Fähigkeit bzw. Unfähigkeit zu geschlechtlicher Fortpflanzung, und zwar in dem fortgeschrittenen entwicklungsphysiologischen Stadium, in dem die Fortpflanzungsfähigkeit normalerweise vorhanden ist. Ist ein Organismus nur darum nicht zur geschlechtlichen Fortpflanzung fähig, weil er vor Erreichen des fortpflanzungsfähigen Stadiums stirbt, so ist anzunehmen, daß sein Defekt genetischer Art ist, d. h. auf den mendelnden Einheiten beruht, die als Letal-, Semiletal- und Subvitalfaktoren bezeichnet werden (E. HADORN 1949).

Als Maß der Fertilität eines Individuums gilt allgemein die Zahl seiner Nachkommen, d. h. der produzierten keimfähigen Samen. Diese ist jedoch in erster Linie von der Zahl der Blüten und von der Fecundität der betreffenden systematischen Einheit, d. h. der Zahl der Gonenanlagen abhängig.

Die geschlechtliche Fortpflanzung selbst beruht auf zwei verschiedenen Vorgängen: der *Gametenbildung* und der *Gametenverschmelzung*. Dementsprechend können auch ihre Störungen entweder in der Bildung oder in der Verschmelzung

der Gameten ihre Ursache haben. Erfolgt die Störung bei der Bildung der Gameten, haben wir *Gonensterilität*, die auch als echte Sterilität oder *Individualsterilität* bezeichnet werden kann, vor uns. Diese beruht häufig auf *Störungen in den Kernteilungsmechanismen* und äußert sich dann in abnormen, nicht funktionsfähigen Gameten. Sie kann aber auch auf Sterilitätsfaktoren oder Sterilitätsgenen beruhen, welche die Entstehung der ganzen Sexualorgane oder nur der Gonen stören oder verhindern.

Wenn sich die Störungen bei der Verschmelzung der Gameten äußern, dann haben wir *Inkompatibilität* vor uns, die auch als Parasterilität oder *Kombinationssterilität* bezeichnet werden kann. Innerhalb der Kombinationssterilität muß zwischen Selbst(para)sterilität und Kreuzungs(para)sterilität unterschieden werden, je nachdem ob die Bestäubungen als Selbstungen oder als Kreuzungen zu bewerten sind.

Der Zeitpunkt, in welchem das fortpflanzungsfähige Alter erreicht wird, ist bei *Elodea* schwer festzustellen. Ein eigentliches Jugendstadium ist kaum vorhanden, wohl sind die ersten Blätter am jungen Sproß kurz nach der Keimung noch etwas heller als normal und auch die nächsten Blätter kürzer. Bald aber (bei Bastarden erst später) wird ihr Aussehen normal. In welchem Alter, nach arteigener Bestäubung, die Blütenbildung beginnt, ist noch nicht festgestellt worden. Nach vegetativer Vermehrung durch Stecklinge beginnt bei warmem Wetter rasch ein lebhaftes Wachstum, wobei zuerst meist zahlreiche Ausläufer gebildet werden. Die Blütenbildung beginnt aber immer erst, wenn das Kulturgefäß von einem dichten Rasen erfüllt ist, dessen Sproßenden die Wasseroberfläche erreichen. Zu hoher Wasserstand am natürlichen Standort muß die Blütenbildung verhindern. Praktisch bedeutet dies: wurden die Sprosse im April oder Mai ausgepflanzt, so begann die Blütezeit meist Mitte Juni, wurde erst im Juni ausgepflanzt, so kamen die Blüten erst Ende Juli oder im August.

Die Blühwilligkeit, d. h. die Menge der Blüten die je Sommer produziert werden, ist auch von anderen Außenbedingungen stark abhängig. Bei schönem, sonnigem Wetter werden sehr viel mehr Blüten gebildet als bei kaltem und regnerischem. Wird die Temperatur allzu hoch, scheint der Samenansatz jedoch reduziert zu werden. Die ♂ Blüten öffnen sich nur, wenn sie von der Sonne beschienen werden, sonst bleiben sie, im Gegensatz zu den ♀, geschlossen. Bei schlechtem Wetter bleiben die ungestielten ♂ Blüten von *Elodea occidentalis* in ihren Blattachseln an den untergetauchten Sprossen und steigen nicht an die Wasseroberfläche, während die Stiele der ♂ Blüten von *E. canadensis* sich eventuell schon in der vorausgegangenen Nacht gestreckt haben und nahe an den Wasserspiegel herangelangt sind. Bei trübem Wetter öffnen sie sich nicht (vgl. M. Ernst-Schwarzenbach 1945b). Dadurch ist die Zahl der zur Anthese gelangenden Blüten je nach Sommer verschieden. Da von Ende August bis spätestens Mitte September an das Wetter schon wieder zu kühl ist und zudem Morgennebel die recht-

zeitige Sonnenbestrahlung oft hindern, hört die Blütenbildung zu dieser Jahreszeit schon wieder auf. Damit verglichen ist *Lagarosiphon muscoides* sehr viel weniger empfindlich auf kühle Witterung und kann bis in den Oktober hinein ♂ Blüten aufsteigen lassen, doch stört der Morgennebel durch Wassertropfenbildung oft ihre Entfaltung.

Zu Wasserstand und Witterungseinflüssen gesellen sich noch andere äußere und vielleicht auch innere Faktoren. Derselbe Klon, in zwei verschiedenen nebeneinanderstehenden Fässern, blüht im einen reichlich, im anderen wenig oder gar nicht. Ganz besonders gilt dies von den ♂ Pflanzen, die allgemein spärlicher blühen als die ♀, was planmäßige Versuchsserien oft sehr stört. Im Jahre 1937 z. B. hat *E. canadensis* aus dem St. Lorenzstrom so wenig ♂ Blüten gebildet, daß, nachdem schon im Jahre 1936 ihre Zahl gering war, der Verlust der Blühfähigkeit dieser schwererhältlichen Form befürchtet werden mußte. Im Jahre 1938 aber blühte der gleiche Klon, der den Winter in Gläsern im Institut überdauert hatte, wieder sehr intensiv. Im Sommer 1944 machte *E. occidentalis* eine ähnliche, vorübergehende Krise der Blütenbildung durch. Natürlich hängt dies zum Teil damit zusammen, daß es bei Kultur in Fässern im Freien nicht möglich ist, die Bedingungen immer genau gleich zu halten.

Lagarosiphon muscoides blühte jährlich in immer gleicher Üppigkeit. Die ganze Oberfläche des Wassers war jeweils mit Blüten beider Geschlechter bedeckt. Diese Art vermag auch in den Gläsern im Institut zu blühen, was bei den beiden *Elodea*-Arten nur sehr selten beobachtet wird.

Die *Fragestellung* der vorliegenden Untersuchungen ist daher die folgende:

1. Kann die verminderte Fertilität der *Elodea*-Bestäubungen auf einer geringen Fecundität der ♂ oder ♀ *Elodea*-Blüten beruhen? 2. Oder beruht sie auf echter Sterilität, d. h. sind die Gonen zum Teil nicht funktionsfähig? 3. Wenn letzteres zutrifft: handelt es sich um zytologische Störungen im Reduktionsteilungsmechanismus oder um Sterilitätsgene, welche die Zahl der funktionstüchtigen Gameten reduzieren? 4. Erfaßt die Störung nur die ♂, nur die ♀ oder beiderlei Gonen? 5. Ist die verminderte Fertilität nicht auf Individualsterilität sondern auf Inkompatibilität zurückzuführen, d. h. sind die Eltern echt fertil und ihre Gameten funktionsfähig, wird aber ihre Verbindung durch irgendwelche physiologischen oder genetischen Ursachen gestört?

Letzten Endes geht es darum abzuklären, ob die verminderte Fertilität genetisch, zytologisch oder physiologisch bedingt ist.

4. Pollen und Pollenschlauchwachstum.

Die *Fecundität*, d. h. die Zahl der Gonen, ist bei beiden *Elodea*-Arten im ♂ Geschlecht ziemlich groß. In jedem der 4 Pollensäcke der 9 An-

theren von *E. occidentalis* entwickeln sich 10—20 Pollenmutterzellen, in denen von *E. canadensis* eher mehr. Bei *Lagarosiphon muscoides* werden in jeder der 3 Antheren nur 16 Pollenkörner gebildet, da ja in jedem Pollensack nur eine Pollenmutterzelle entsteht und sich weiterentwickelt. Die Bestäubung wird durch besondere blütenbiologische Einrichtungen gesichert (vgl. M. ERNST-SCHWARZENBACH 1945b).

Da aber in den Vorversuchen mit *Elodea* nie alle 4 Pollenkörner derselben Tetrade zur Befruchtung gelangten, war anzunehmen, daß zwischen ihnen Unterschiede bestünden, die Schlüsse auf die Ursache der verminderten Fertilität zulassen dürften. Diese Unterschiede können entweder morphologisch oder zytologisch oder nur physiologisch feststellbar sein.

a) Morphologie und Zytologie des Pollens.

Eine Untersuchung des Anthereninhalts unserer *Elodea*-Arten zeigte, daß degenerierte Pollenkörner nicht häufig sind und daher keinesfalls als Ursache verminderter Fertilität in Frage kommen. Hie und da, aber nur in geringer Zahl, finden sich Dyaden, Triaden und Pentaden statt Tetraden.

Die genaue Durchsicht der beiden Teilungen der Meiosen, der progamen Teilung des primären Pollenkernes und der allgemeinen Struktur der Ruhekerne der Pollenkörner ergaben zudem nicht den geringsten Anhaltspunkt für häufigere Störungen, aus welchen abnorme Pollenkörner entstehen könnten. Alle 4 Pollenkörner haben normale, regelmäßige, gut entwickelte Kerne. SANTOS (1923 und 1924) hat als Unterschied zwischen den Zellkernen der ♂- und ♀-bestimmenden Pollenkörner bei *Elodea gigantea* und *E. canadensis* Geschlechtschromosomen festgestellt. In den Pollenmutterzellen soll in den Diakinesen der heterotypischen Teilungen je ein Bivalentenpaar entstehen, dessen Partner von verschiedener Größe sind. In der darauffolgenden beginnenden Anaphase sehe man die beiden ungleichen Partner an entgegengesetzte Pole wandern. Der kleinere Partner, das Y-Chromosom, sei in den somatischen Teilungen der ♂, der größere, das X-Chromosom in den Mitosen der ♀ Pflanzen wieder zu finden.

Dasselbe wurde von MATSUURA und SUTÔ (1935) auch für *Elodea densa* CASP. bestätigt. Diese *Elodea densa* dürfte identisch sein mit der von SANTOS untersuchten *Elodea gigantea*, deren Herkunft er nicht kennt, und mit der auch von uns untersuchten *E. densa* CASP., die sehr großblättrig und im Wasserpflanzenhandel nur in ♂ Exemplaren erhältlich ist. Die von SANTOS untersuchte *E. canadensis*, die er unter Leitung von CHAMBERLAIN im Wolf Lake bei Chicago sammelte und verarbeitete, dürfte unserer *E. occidentalis* ST. JOHN entsprechen, den Nachkommen der von CHAMBERLAIN vom selben Standort an STRASBURGER geschickten

Pflanzen. Unsere aus dem St. Lorenzstrom stammende *Elodea canadensis* scheint sich zytologisch sehr ähnlich zu verhalten. Doch konnten wir bis jetzt an unserem Material aller 3 *Elodea*-Arten keine Geschlechtschromosomen feststellen, wohl aber in allen ♂ und ♀ Genomen das, auch von Santos beobachtete, große L-Chromosom. Santos schreibt zudem, daß jede Pollentetrade aus 2 großen und 2 kleinen Pollenkörnern bestehe und führt den Dimorphismus auf die durch die Geschlechtschromosomen bedingten Unterschiede in der Chromatinmenge zurück. In früheren Messungen an *Elodea*-Tetraden (M. Ernst-Schwarzenbach 1950) wurde nachgewiesen, daß die ellipsoiden Pollenkörner in den Tetraden oft so liegen, daß die Längsachsen zweier Pollenkörner senkrecht zu den Längsachsen der beiden anderen stehen, so daß Unterschiede vorgetäuscht werden, die in Wirklichkeit nicht vorhanden sind. Die Tetraden unter dem Mikroskop so hin und her zu rollen, daß alle großen Durchmesser gemessen werden können, ist nicht möglich. Werden nur die kleinen Durchmesser gemessen und miteinander verglichen, so kann nicht von einem reellen Dimorphismus sondern nur von individueller Variabilität gesprochen werden. Aber auch wenn durch die Chromatinmenge bedingte Größenunterschiede der Pollenkörner festgestellt worden wären, hätten sie wohl kaum eine Beziehung zur verminderten Fertilität. Es sei denn, es könnte nur das eine Geschlecht durch Samenbildung entstehen; eine Annahme, die unsere Kreuzungsversuche, die zu ♂ und ♀ Bastarden führten, widerlegen.

Nachdem nun festgestellt worden war, daß die verminderte Fertilität unserer *Elodea*-Arten nicht auf der Bildung von zytologisch abnormen Pollenkörnern beruhen kann und auch sonst die Pollenkörner derselben Tetrade keinerlei erbliche morphologische Differenzen aufweisen, mußte angenommen werden, daß physiologische Unterschiede vorliegen.

Auch bei dem zur Ergänzung herangezogenen *Lagarosiphon muscoides* sind zwischen den 4 Pollenkörnern, die aus derselben Tetrade stammen, keinerlei zytologische oder morphologische Unterschiede festzustellen.

b) Keimungsphysiologie des Pollens.

Die Funktionsfähigkeit der Pollenkörner wurde daraufhin durch Pollenkeimungsversuche untersucht. Vorversuche mit verschiedenen Hydrocharitaceen hatten völlige Erfolglosigkeit von Gelatine und verschiedenen üblichen Saccharosekonzentrationen als Kulturmedien ergeben. *Pollenkeimungen wurden nur erreicht, wenn Teile von Narben weiblicher Blüten in das Kulturmedium gelegt wurden.*

In den Versuchsserien wurde nun in erster Linie darauf geachtet, möglichst der Natur entsprechende Keimungsbedingungen zu schaffen. In zweiter Linie wurde versucht, diese Bedingungen so abzuändern, daß die Zahl der keimenden Pollenkörner erhöht wurde. Schon früher

waren mit ♂ und ♀ Blüten von *Elodea canadensis* aus dem St. Lorenzstrom und von *E. occidentalis* inter- und intraspezifische Bestäubungen vorgenommen und war festgestellt worden, daß die Fertilität in beiden Verbindungsmodi sehr ähnlich ist. Nun zeigte sich auch, daß die Pollenkörner auf Narben derselben Art gleich gut keimen und wachsen, wie auf den Narben der andern Art. In den vorliegenden Versuchen wurden meistNarben von *E. canadensis* mit Pollen von beiden Arten bestäubt, weil sich die farblosen Pollenschläuche viel besser von den, durch ihren Zellsaft leuchtend roten Narbenpapillen von *E. canadensis* abheben, als von den nahezu farblosen Narbenpapillen von *E. occidentalis*. Im übrigen unterscheiden sich beider Narbenpapillen nur durch ihre warzig-körnige Oberfläche von den im Durchmesser genau gleichen aber glatten Pollenschläuchen.

Zur Ergänzung wurden auch Keimungsversuche an und mit *Lagarosiphon* und mit Pollen von *Hydrilla verticillata* durchgeführt.

Die ♀ Blüten wurden kurz *nach* ihrer Anthese, die ♂ kurz *vor* der Anthese, d. h. etwa 9 Uhr morgens, aus ihren Kulturfässern im Versuchsgarten ins Labor genommen. Die Anthese der ♂ Blüten erfolgt plötzlich, explosionsartig, und die Pollenkörner fallen, bei *E. occidentalis* sofort, bei *E. canadensis* auf leichteste Erschütterung hin, nahezu alle in das umgebende Wasser. Die ♂ Blüten können daher nicht erst nach der Anthese in den Versuchsraum gebracht werden. Vergleichende Versuche haben gezeigt, daß *Elodea*-Pollen aus kurz vor der Anthese stehenden Blüten ebensogut verwendet werden kann, wie eben gerade nach seiner Ausstreuung aufgefangener, denn die Antheren öffnen sich vor der Anthese der Blütenhülle, so daß die Pollentetraden frei in der noch geschlossenen Blütenhülle liegen. Dasselbe gilt vom Pollen von *Hydrilla*, im Gegensatz zu *Lagarosiphon muscoides*, dessen Pollenkörner vorerst an der Antherenwand festkleben und erst einige Zeit nach der Anthese brauchbar sind. Die frei schwimmenden ♂ *Lagarosiphon*-Knospen mußten daher vor der Anthese eingefangen und im Versuchsraum an die Sonne gestellt werden, worauf sie sich nach kurzer Zeit durchaus normal entfalteten und für die Versuche brauchbar wurden.

Die ♀ Blüten von *Elodea* und von *Lagarosiphon* tragen auf einem langen Halsteil des Gynaeceums über einer tellerförmigen Blütenhülle 3 gegabelte Narbenäste, deren Rand von langen Papillen bedeckt ist, während die mittleren Teile glatt sind (vgl. Abb. 1). Die Narbenäste von *Elodea* berühren das Wasser, die von *Lagarosiphon* nicht. (Nähere Angaben vgl. M. Ernst-Schwarzenbach 1945b.)

Auf ein Deckglas wurde nun ein Tropfen des Wassers gegeben, in welchem die Pflanzen im Freien gezogen wurden, und hier hinein 1—3 Äste der dreiteiligen Narben von *Elodea*. Auf diese wurde Pollen direkt aus einer ♂ Blüte geschüttet und das Deckglas, mit dem

Wassertropfen nach unten, auf eine feuchte Kammer gelegt. Um die Bedingungen noch natürlicher zu gestalten, wurde auch eine Serie angesetzt, bei welcher eine ganze ♀ Blüte auf den Grund der feuchten Kammer auf Wasser gelegt wurde (Durchmesser der Kammer 1,5 cm). Die Blüte wurde dann mit frischen Pollentetraden belegt und mit einem Deckglas vor dem Austrocknen geschützt. Bei diesem Verfahren ließen sich aber die Keimungen unter dem Mikroskop nur sehr schlecht beobachten und die notwendigen Manipulationen an den Tetraden waren sehr erschwert, so daß auf diese natürlichste Anordnung verzichtet werden mußte.

Abb. 1. *Elodea canadensis* aus dem St. Lorenzstrom. Die ♀ Blüten fluten auf dem Wasser, dessen Spiegel durch sie leicht eingedrückt wird (helle Höfe um die Blüten herum). Schwimmende Pollentetraden werden an die 3, an ihrer Spitze gegabelten Narbenäste herangetrieben. Zwischen den dunklen von Papillen bedeckten Rändern der Narben sieht man die glatten papillenfreien mittleren Partien. Vergr. 3:1.

Auf den im hängenden Tropfen liegenden Narbenästen begann der Pollen nach wenigen Minuten zu keimen. Da die Dicke der Narbenäste für die Beobachtung etwas hinderlich ist, wurden sie der Länge nach gespalten. Versuche mit verschiedenen Mengen von Narben und Wasser zeigten, daß die besten Resultate zu erwarten sind, wenn in einen möglichst kleinen Tropfen, der aber doch so groß sein muß, daß er nicht austrocknet, alle 3 Äste einer Narbe, eventuell längsgespalten, so gelegt werden, daß die Oberseite der Narbenteile mehr oder weniger an der Oberfläche des Tropfens liegt. Darauf ist recht viel Pollen zu legen. E. Kuhn (1938) hat bei verschiedenen Pflanzen nachgewiesen, daß die Pollenkeimung um so besser gelingt, je geringer die Wassermenge im Substrat ist. Daß diese Beziehung aber auch für Wasserpflanzen, deren Pollen schwimmend zu den im Wasser liegenden Narben gelangt, zu gelten scheint, ist eigenartig, erklärt jedoch vielleicht, warum nur die Pollenkörner keimen, welche ganz nahe an den Papillen liegen. Während des Versuches liegt die Narbenoberfläche in der feuchten Kammer nach unten, in der feuchten Luft und für die mikroskopische Untersuchung muß jeweils das Deckglas von der Kammer abgehoben und mit dem Tropfen nach oben unter das Mikroskop genommen werden. Unter

diesen günstigen Versuchsbedingungen sind denn auch die meisten zu beschreibenden Beobachtungen gemacht worden. Mit einem feinen Pinsel ist es möglich die Tetraden genau auf die Stellen der Narben zu legen, auf welchen man sie haben will. Da die Keimung sofort beginnt, und der Versuch nach 2—3 Std abgeschlossen ist, stört die Unreinheit des Wassers aus den Kulturgefäßen nicht, d. h. Pilze und Bakterien werden erst lästig sichtbar, wenn der Versuch bereits abgeschlossen ist. Frisches Leitungswasser und destilliertes Wasser erwiesen sich, wegen des damit verbundenen Wechsels der Umweltbedingungen, als für die Pollenkeimung ungünstig.

Im Bestreben eine erhöhte Zahl von Pollenkeimungen zu erhalten, wurden diese natürlichen Versuchsbedingungen folgendermaßen abgeändert:

1. Statt ganzer Narbenäste wurden zu Brei zerriebene Narben verwendet, in der Annahme, daß die von den Narben sezernierten Stoffe so regelmäßiger an alle 4 Pollenkörner der Tetrade herankommen. Der Erfolg war ein durchaus negativer, von 639 Pollentetraden in 12 Versuchen zeigten nur 15 Keimungen und zwar durchwegs von nur 1 Pollenkorn je Tetrade, so daß nur etwa 0,58% der Pollenkörner gekeimt haben. Die durch das Zerdrücken der Narben in das Wasser gelangten Stoffe scheinen die Keimung stärker zu hemmen als die von der Narbe sezernierten Stoffe sie zu fördern vermögen.

2. Statt Wasser aus den Kulturen im Freien wurden Saccharoselösungen von 1, 2, 5, 10, 15 und 20% verwendet, daneben Kontrollen mit zuckerfreiem Wasser aus den Kulturen, und die Narben in diese gelegt. In 1-, 2- und 5%iger Saccharose + Narbenteilen keimte der Pollen wie in den Wasserversuchen, doch waren die Pollenkörner und ihre Schläuche in Zuckerlösung + Narbenteile schon nach $1^1/_2$ Std geplatzt, während die Schläuche in Wasser + Narbenteile noch langsam weiterwuchsen. In 10-, 15- und 20%igen Zuckerlösungen wurden die Narbenpapillen sofort plasmolysiert und die Pollenkörner keimten nicht.

Höhere Zuckerkonzentrationen hemmen somit die Keimung der Pollenkörner, während geringere Konzentrationen sie nicht merklich fördern und zudem ein rascheres Platzen der Körner und Schläuche bewirken. Auf den Zusatz von Saccharose zu den Narbenpräparaten wurde daher für die weiteren Versuche verzichtet. Von anderen Versuchen, den Einfluß von verschiedenen Stoffen auf die Pollenkeimung zu analysieren, wurde abgesehen, da ja die Arbeit nicht allgemein pollenphysiologischen Studien galt, für welche unser Objekt wenig geeignet sein dürfte, sondern ganz nur auf die Frage nach den Ursachen der partiellen Sterilität der *Elodea*-Bestäubungen ausgerichtet war.

Nachdem die günstigsten natürlichen Kulturbedingungen abgeklärt waren, konnte mit den eigentlichen Beobachtungen begonnen werden. Es stellten sich hierbei 3 Fragen.

1. Keimen auch dort, wo die Variabilität der Pollenkörner innerhalb derselben Tetrade relativ groß ist, nur die größeren, nur die mittleren oder nur die kleineren Pollenkörner, oder spielt deren Größe für ihre Keimfähigkeit keine Rolle? 2. Ist der Abstand der Pollenkörner von den Narbenpapillen von Einfluß auf ihre Keimung? 3. Keimen vielleicht nur Pollenkörner, welche die Narbenpapillen berühren? 4. Wird die Keimung nur von den Narben, oder vielleicht auch von Griffelgewebe und Samenanlagen ausgelöst?

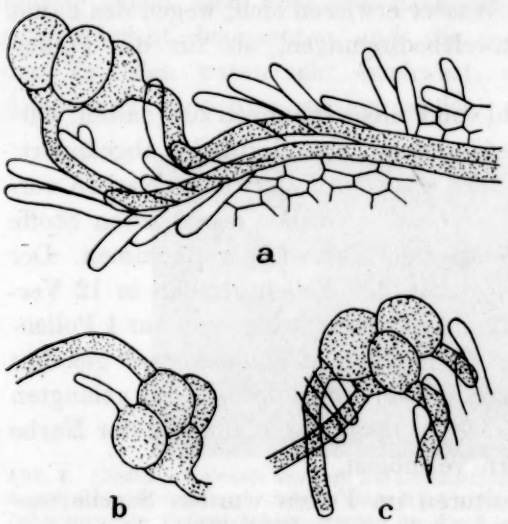


Abb. 2a—c. a Pollentetraden von *E. occidentalis* auf einem Narbenast von *E. canadensis*. Von den 4 Pollenkörnern haben nur die 2 gekeimt, die dicht neben Narbenpapillen lagen. Die Pollenschläuche wachsen den Papillen entlang gegen deren Basis und die mittleren Narbenteile hin. 29. 6. 49. b Von den 4 Pollenkörnern einer Tetrade von *E. canadensis* haben 2 normale, dicke Schläuche mit Plasmaströmung, ein dritter nur einen dünnen Schlauch ohne Plasmaströmung gebildet. Das 4. Pollenkorn hat nicht gekeimt. 1. 7. 49. c Pollentetraden von *E. canadensis* zwischen 2 Narbenstücken derselben Art: alle 4 Pollenkörner haben Narbenpapillen berührt und daraufhin gekeimt.

Normalerweise verlaufen die Keimungen folgendermaßen: Im kurz nach 9 Uhr angesetzten Versuch, in welchem die Pollenkörner neben den Narbenästen liegen, beginnen die den Narbenästen am nächsten liegenden Pollenkörner nach wenigen Minuten Schläuche zu bilden und zwar normalerweise immer nur 1—2 Pollenkörner je Tetrade, auch wenn alle Pollenkörner gleich weit von den Papillen wegliegen (vgl. Abbildung 2a). Ausnahmsweise keimen auch von den Narben abgewandte Pollenkörner. Zudem ist es am Pollenkorn selbst durchaus nicht immer die der Narbenpapille am nächsten liegende Stelle, an welcher der Schlauch austritt. Nach ungefähr 1 Std, d. h. etwa um 10 Uhr, ist das Wachstum der Pollenschläuche am lebhaftesten. Die in ihren Dimensionen den Narbenpapillen sehr ähnlichen Pollenschläuche sind voll Plasma, das sich, im Gegensatz zum Inhalt der Narbenpapillen, lebhaft und ruckweise bewegt. Die Schläuche winden sich um die Narbenpapillen herum, gegen deren Basis hin und wachsen durch die Zone der Papillen hindurch gegen die glatte Oberfläche der mittleren Narbenteile und über diese bis zur Narbenbasis (Abb. 2a und 3). Wenn die Narbenteile regellos im Tropfen liegen, wachsen viele Schläuche auch regellos quer über die nächste Narbe und zu anderen Narbenteilen oder zu Pollentetraden hin. Sobald aber die Narbenteile sorgfältig in natürlicher Lage, wie bereits geschil-

dert, auf den Wassertropfen gelegt werden, so daß deren normale Oberseite in den Luftraum ragt, wachsen keine Schläuche mehr quer über die Narben hin, sondern alle geregelt nach der Narbenbasis zu. Nach 11 Uhr verlangsamt sich die Plasmaströmung im Pollenschlauche. Versuche, die nach dieser Zeit angesetzt werden, zeigen nur ganz wenig Keimungen. Ob die Pollentetraden im Wasser *neben* den Narbenpapillen liegen, wie es in der Natur meist der Fall ist, oder an der Luft *auf* den Narbenpapillen, scheint für deren Keimung von geringer Bedeutung, obschon die Narbenpapillen dort, wo sie das Wasser berühren, gewisse Veränderungen erfahren. Die bei *E. canadensis* anthozyanhaltigen, bei *E. occidentalis* anthozyanfreien Papillen haben an der Luft eine stark körnig-warzige Oberfläche, sobald sie aber das Wasser berühren, strecken sich die Papillen und schwellen leicht an, wodurch sie heller und ihre Oberfläche relativ weniger warzig-körnig erscheinen.

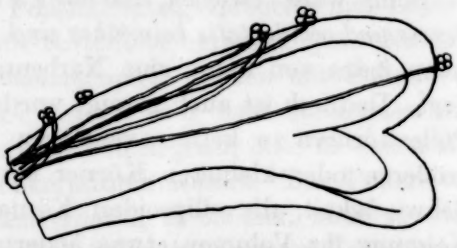


Abb. 3. Von den auf den Narbenpapillen liegenden Pollentetraden wachsen die Schläuche über die mittleren glatten Partien gegen das Griffelgewebe im Halsteil der Blüte hin.

In der Folge wurde nun versucht, die Tetraden so auf die Narben zu legen, daß jedes Pollenkorn eine Papille berührt, was mit einem ganz feinen Pinsel gelingt, ohne die Tetraden zu schädigen. Zuerst wurde damit nur erreicht, daß hie und da noch ein weiteres Pollenkorn der Tetrade einen Schlauch bildete (Abb. 2b), der aber viel dünner, nur etwa halb so dick war wie die normalen Pollenschläuche, und in dem keine Plasmaströmung zu sehen war. Solche dünnen Pollenschläuche entstehen durchwegs später als die normalen, aber auch etwa an Tetraden, die als Ganze weiter von der Narbe entfernt liegen. Sie wachsen regellos, zum Teil sogar in Richtung von den Narben weg, und bevor ihr Wachstum aufhört, schwellen ihre Enden leicht an.

Dreimal aber wurde beobachtet, daß 3 Pollenkörner derselben Tetrade richtig, mit normal dicken und Plasmaströmung zeigenden Schläuchen keimten. Darauf wurde von außen her ein Narbenstück an das 4. Pollenkorn herangeschoben, doch gelang es nicht, auch dieses damit zur Keimung anzuregen. Aber schon die Tatsache, daß mehrmals 3 statt 2 Pollenkörner derselben Tetrade keimten, zeigt, daß ein genotypisch bedingter mendelnder Unterschied der Pollenkörner nicht in Frage kommt, da sich ein solcher im Verhältnis von 2 keimenden zu 2 nichtkeimenden Körnern äußern müßte.

Zudem gelang es in der Folge mehrmals, *alle 4 Pollenkörner* derselben Tetrade zu richtiger Keimung zu veranlassen. Mehrmals konnten einige Tetraden so zwischen 2 verschiedene Narbenstücke gelegt werden, daß

2 Pollenkörner die Papillen des einen, 2 die Papillen des anderen berührten (Abb. 2c), oder es gelang eine Tetrade so auf die mittleren Teile eines Narbenastes zu legen, daß jedes Pollenkorn eine Papille der einen oder der anderen seitlichen Papillenzone berührte. Die 4 Pollenkörner bildeten je einen Schlauch aus, alle 4 Schläuche waren von normaler Dicke und enthielten viel strömendes Plasma. Nicht immer allerdings wuchsen alle gleich rasch (Abb. 2b). Auch in diesen Versuchen zeigte es sich, daß die Pollenkörner von *E. occidentalis* und *E. canadensis* gleich gut keimen und in beiden Arten alle 4 Pollenkörner keimfähig sind.

Somit wäre bewiesen, daß *alle 4 Pollenkörner der Tetrade von E. canadensis und occidentalis keimfähig sind*, sie jedoch nur dann alle 4 keimen, wenn jedes von ihnen eine Narbenpapille berührt oder ihr sehr nahe liegt. Dadurch ist auch gezeigt worden, daß alle Größenkategorien von Pollenkörnern zu keimen vermögen. Ob nun bei den Keimungen die größeren oder kleineren Körner bevorzugt werden, ließ sich bei der Schwierigkeit, die ellipsoiden Körner zu messen, die zudem bei der Keimung ihr Volumen etwas ändern, nicht feststellen. Dadurch, daß alle zur Keimung fähig sind, hat aber diese Frage stark an Bedeutung verloren.

In einer weiteren Serie von Versuchen wurde die *Wirkung der übrigen Teile des Gynaeceums* auf den Pollen untersucht. Zerschnittene Halsteile („Griffel"), halbierte Fruchtknoten, Stücke der Fruchtknotenwand und einzelne Samenanlagen wurden in Wassertropfen aus den Kulturgefäßen gelegt. Zur Kontrolle dienten Narbenteile in Kulturwasser oder Tropfen von Kulturwasser ohne Zusatz von Blütenteilen. Alle wurden reichlich mit Pollentetraden belegt. Einzig und allein die Pollenkörner auf den Narbenästen haben gekeimt, in allen anderen Versuchen entstanden, höchstens ganz vereinzelt, einige von den dünnen abnormen Pollenschläuchen, ohne Plasmaströmung. Für die *Auslösung* der Pollenkeimung scheinen demnach die Narben unentbehrlich zu sein. Ihr Sekret dürfte die Keimung hervorrufen.

Die weiteren Stadien des Wachstums der Pollenschläuche sind schwieriger zu verfolgen. Der durch die Zone der Narbenpapillen hindurchgewachsene Schlauch wächst, wie Abb. 3 zeigt, auf der Oberfläche der papillenfreien, zentralen Partien der Narbe gegen den „Griffel" hin und ist an seinem Plasmareichtum jederzeit zu erkennen. An der Basis der Narbenäste oder, wo ein Stück des Halsteiles noch daran liegt an diesem, treten die Pollenschläuche aus der Schnittfläche aus, oft bilden sie Schlingen, wachsen aber bei *Elodea* nie weit in das Kulturmedium hinaus. In den Versuchen dauert das Wachstum der Pollenschläuche meist nur bis gegen 12 Uhr, nachher stagniert es, und zu Beginn des Nachmittages sind die meisten Schläuche geplatzt.

Pollenkeimungen wurden auch in anderen Kombinationen versucht: Pollen von *E. canadensis* aus dem St. Lorenzstrom wurde auf Narben von *E. canadensis* aus der Umgebung von Zürich gelegt, wo er normal keimte und weiterwuchs. Mehrmals keimten 3 Pollenkörner derselben Tetrade, die jedes eine Narbenpapille berührt hatten. Schon frühere Versuche (M. ERNST-SCHWARZENBACH 1945a) hatten die Fertilität dieser Verbindung und damit die Funktionsfähigkeit europäischer *E. canadensis*-Embryosäcke bewiesen. Pollen von *E. canadensis* aus dem St. Lorenzstrom, der auf die großen, weißen Narbenäste von *E. callitrichoides* gelegt wurde, keimte auch dort sehr gut. Diese Verbindung ergab aber nie samenhaltige Früchte.

Zum Vergleich wurden noch Pollenkeimungsversuche mit *Lagarosiphon muscoides* und mit *Hydrilla verticillata* herangezogen. Narbenäste von *Elodea canadensis* im Wassertropfen wurden mit Pollen von *Hydrilla verticillata* belegt. Dieser begann sehr bald zu keimen und zwar gleichgültig, ob dicht bei den Narben liegend, oder in einem Abstand vom Mehrfachen des Pollenkorndurchmessers. Der Pollen von *Hydrilla* bleibt nicht im Tetradenverband, es keimen aber so viele Pollenkörner, daß nicht anzunehmen ist, ein bestimmter Teil der aus derselben Tetrade stammenden Pollenkörner sei nicht keimfähig. Die Schläuche wachsen wie die von *Elodea* den Narbenpapillen entlang, dann über die mittleren Teile der Narbe hin gegen deren Basis zu. Dort treten sie in so großer Zahl wieder aus der Schnittfläche aus, wie dies bei *Elodea*-Pollenschläuchen nie beobachtet wurde. *Hydrilla*-Pollen keimt somit viel besser auf *Elodea canadensis*-Narben als *Elodea*-Pollen. Aber die früheren 13 Kreuzbestäubungen von *Elodea canadensis* mit *Hydrilla verticillata*, die 19 Bestäubungen von *E. occidentalis* mit *Hydrilla*-Pollen und die 22 reziproken Bestäubungen haben nie irgendwelche Samen ergeben (vgl. M. ERNST-SCHWARZENBACH 1945a). Die Inkompatibilität dieser Verbindungen äußert sich offenbar erst später im Verlauf des Wachstums des Pollenschlauches durch die übrigen Teile des Gynaeceums.

Gleiche Versuche wurden mit *Lagarosiphon muscoides* angesetzt, dessen Pollen ja ebenfalls nicht im Tetradenverband bleibt. Wenn Narbenäste von *Lagarosiphon muscoides* mit Pollen derselben Art belegt werden, keimen alle, die Narbenpapillen berührenden oder in deren Nähe liegenden Pollenkörner und treiben normale Schläuche. Wenn aber die in der Nähe liegenden Schläuche die Narben nach $1^1/_2$ Std noch nicht erreicht haben, dann platzen sie. Auch auf *Elodea*-Narben keimen weiter von den Papillen entfernte Pollenkörner, im Gegensatz zum *Hydrilla*-Pollen, nicht. Die Keimfähigkeit des *Lagarosiphon*-Pollens auf Narben von *Elodea* ist gut: es keimen nahezu alle die Narbenpapillen berührenden Pollenkörner, wachsen dann über die glatten Mittelpartien der

Narben gegen deren Basis hin, wo sie an der Schnittstelle austreten und noch längere Zeit weiterwachsen. Der *Lagarosiphon*-Pollen keimt somit sowohl bei Selbstung wie bei Kreuzung sehr gut. Zum Teil kann er je Korn 2 Schläuche bilden, was wohl auf sehr frühe Gabelung der betreffenden Schläuche zurückzuführen ist. Aber in bezug auf den Samenansatz ist auch die Verbindung von *Elodea* mit *Lagarosiphon* inkompatibel, denn die Kreuzbestäubungen ergaben nie irgendwelchen Samen.

Werden *Lagarosiphon*-Narben mit Pollen von *Elodea* belegt, dann ist die Keimfähigkeit des *Elodea*-Pollens noch geringer als auf den Narben der eigenen Gattung. Wohl keimten von mehreren Tetraden je 1—2 Pollenkörner, wuchsen den Narbenpapillen entlang, platzten aber nach $1^1/_2$—2 Std. In den gleichzeitig angesetzten Kontrollversuchen auf arteigenen Narbenstücken keimten 1—4 Pollenkörner je Tetrade und nur ganz wenige platzten.

Vergleichen wir Keimfähigkeit des Pollens und Samenansatz nach Bestäubung innerhalb derselben und zwischen den verschiedenen Gattungen, so sehen wir folgendes: Die Keimfähigkeit des Pollens beider *Elodea*-Arten auf arteigenen und auf artfremden Narben ist geringer als die Keimfähigkeit des *Hydrilla*- oder *Lagarosiphon*-Pollens auf *Elodea*-Narben. Artbastardierungen innerhalb der Gattung *Elodea* sind jedoch fertil, es entstehen Samen, wenn auch die Zahl der keimfähigen Samen je bestäubte Blüte nur 0,09—1,27 beträgt, während die Kreuzbestäubungen zwischen Arten verschiedener Gattungen nie Samen ergaben.

Ob sich die Pollenschläuche der 4 Pollenkörner einer Tetrade während ihres Wachstums zur Fruchtknotenhöhle hinab vielleicht verschieden verhalten, konnte noch nicht abgeklärt werden. Die Hydrocharitaceen haben nach W. Troll (1931) ein „falsches coenocarpes Gynaeceum". Es ist tief unterständig in die Achse eingesenkt, so daß das, was als „Griffel" erscheint, eine Achse ist, die eine 3—10 cm lange Röhre bildet, deren innerste Partien Griffelgewebe, die äußeren Achsengewebe sind. Narbenäste und Blütenhüllen sitzen gemeinsam am apikalen Ende dieser langen Röhre, die als Halsteil der Blüte bezeichnet wird. Der innerste Teil des Griffelgewebes bildet eine dünne Röhre, durch deren Hohlraum die Pollenschläuche in die Fruchtknotenhöhle hinabwachsen. Dieser sog. „Griffel" oder Halsteil läßt sich schlecht aufhellen und die Pollenschläuche enthalten keine Stärke, so daß die Methode von H. Schoch-Bodmer (1932) zu ihrer Sichtbarmachung nicht geeignet ist. Am besten läßt sich der Verlauf der Pollenschläuche im Griffelkanal feststellen, wenn die ganzen Halsteile der Feulgen-Reaktion unterworfen werden. Nach der Hydrolyse wird der Halsteil stückweise nur so stark gequetscht, daß seine einzelnen Schichten auseinanderweichen und die Pollenschläuche sichtbar werden. Durch ihren größeren Plasmareichtum und anderen Brechungsindex heben sie sich deutlich vom Griffelgewebe ab.

5. Untersuchungen an den Fruchtknoten und Samenanlagen.

Es mußte auch mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß die verminderte Fertilität von *Elodea* auf eine hohe Sterilität ihrer Samenanlagen zurückzuführen sei. Die Zahl der Samenanlagen je Frucht ist in dieser Gattung ohnehin recht klein.

Tabelle 1. *Die Fecundität der weiblichen Elodea-Blüten.*

	Zahl der Samenanlagen je Fruchtknoten					Total der untersuchten Früchte
	2	3	4	5	6	
E. occidentalis . . .	—	1	12	8	4	25
E. canadensis . . .	5	29	7	2	—	43

Bei *E. occidentalis* sind meist 4—5, bei *E. canadensis* nur 3 Samenanlagen vorhanden. Die Fecundität im ♀ Geschlecht ist somit sehr gering und bei *E. canadensis* noch kleiner als bei *E. occidentalis*.

Tabelle 2. *Bestäubungserfolge an Elodea-Blüten.*

	1	2	3	4	5	6	7
	Zahl der bestäubten Blüten	Zahl der Fruchtknoten, die Pollenschläuche enthielten	Zahl ihrer Samenanlagen	Davon wurden befruchtet	Davon wurden nicht befruchtet: reife 8kernige Embryosäcke	Davon wurden nicht befruchtet: degenerierte Embryosäcke	Befruchtete Samenanlagen in Prozent der Zahl der Samenanlagen in Fruchtknoten mit Pollenschläuchen
E. occidentalis:							
spontane Bestäubung mit arteigenem Pollen	(9)	5 55,5%	25	15	8	2	60
künstliche Bestäubung							
a) mit arteigenem Pollen	39	18 46,15%	79	23	11	45	29,2
b) mit Pollen von *E. canadensis* . .	14	7 50%	36	—	18	18	—
E. canadensis:							
künstliche Bestäubung							
a) mit arteigenem Pollen	67	34	104	49	24	31	47,1
b) mit Pollen von *E. occidentalis* . .	15	9	31	20	4	7	64,5

Die Fertilität des ♀ Gametophyten wurde durch verschiedene Bestäubungsmodi geprüft: 1. wurden spontan bestäubte Blüten, deren Fruchtknoten bereits angeschwollen waren, fixiert, 2. an bestimmten bezeichneten Blüten wurden die Narben mit Pollen derselben Art belegt und

die Fruchtknoten in regelmäßigen Zeitabständen fixiert, 3. weitere Blüten wurden mit Pollen der anderen Art bestäubt und ebenso fixiert. Für *E. canadensis* wurden keine spontanen Bestäubungen veranlaßt und untersucht. In Tabelle 2 sind die Resultate für beide Arten in 7 Kolonnen zusammengestellt.

1. Zahl der bestäubten, bei spontaner Bestäubung der untersuchten Blüten. 2. Zahl der bestäubten Blüten, welche in ihren Fruchtknoten Pollenschläuche enthielten, d. h. deren Bestäubung Erfolg hatte, absolute Zahl und in Prozenten ausgedrückt. (In unseren Versuchen war die Befruchtung spätestens 2 Tage nach der Bestäubung vollzogen.) 3. Zahl der Samenanlagen in den Fruchtknoten der Blüten der 2. Kolonne. Von diesen wurden folgende 3 Kategorien ausgezählt: 4. wieviel Samenanlagen bereits befruchtet waren oder doch Pollenschläuche zeigten, die von der Mikropyle aus in eine Synergide eingedrungen waren, 5. wieviel Samenanlagen normal erscheinende, ausgereifte aber nicht befruchtete Embryosäcke enthielten, 6. wieviel Samenanlagen degenerierte oder noch auf einem ganz frühen Stadium der Entwicklung stehengebliebene Embryosäcke enthielten. 7. Zahl der befruchteten Samenanlagen in Prozent der Gesamtzahl der Samenanlagen in Fruchtknoten, die Pollenschläuche enthielten.

Die Reife der Embryosäcke erfolgt autonom und ist nicht von einer vorangehenden Bestäubung abhängig. Kurz vor der Anthese enthielten die Blüten nur 4kernige Embryosäcke, aber Blüten, die während der Anthese, bevor eine Bestäubung erfolgte, fixiert wurden, enthielten zum Teil bereits voll ausgereifte Embryosäcke. Unter „reifen" Embryosäcken sind solche zu verstehen, deren 8 Kerne samt dem dazugehörigen Plasma bereits ausdifferenziert sind zu 1 Eizelle, 2 Synergiden, 2 Polkernen und 3 Antipoden. Die Antipoden sind klein und sitzen am Grunde einer Tasche, zu welcher sich die Basis des Embryosackes verschmälert. Direkt vor dem Ausgang dieser Tasche liegt der untere, nahe der Eizelle der obere Polkern.

Bei *E. occidentalis*, die hier zuerst besprochen sei, liegen im unteren Teil der Fruchtknotenhöhle der unbestäubten Blüte jeweils die Samenanlagen mit fertig ausgereiften Embryosäcken, während die in der oberen oder mittleren Region des Fruchtknotens liegenden Samenanlagen viele entweder noch unreife oder bereits sichtbar in Degeneration begriffene Embryosäcke enthalten. Daß die Embryosäcke nicht ausreifen, sondern auf dem 2—4kernigen Stadium stehenbleiben, ist auch als Ausdruck von Degeneration aufzufassen, denn es ist durchaus nicht so, daß für diese Samenanlagen keine Pollenschläuche mehr in der Fruchtknotenhöhle vorhanden wären. Oft liegen noch Schläuche frei in der Fruchtknotenhöhle oder sie sind in den unteren Griffelpartien zu sehen. Häufig waren auch die schon von R. WYLIE (1904) beobachteten und von ihm „Zysten" genannten kugeligen Anschwellungen des Pollenschlauchendes, auf die im Kapitel 6 zurückzukommen sein wird. Die Pollenschläuche wachsen nach der Bestäubung direkt zu den

unteren Samenanlagen von *E. occidentalis* und meist sind es auch die zu unterst in der Höhle liegenden, die zuerst befruchtet werden. Je höher die Samenanlagen liegen, desto später werden ihre Embryosäcke befruchtet, den obersten nähern sich meist überhaupt keine Pollenschläuche mehr.

Die Befruchtungsfähigkeit ist wohl das erste Kriterium der Fertilität der Embryosäcke. Ein einziges Mal, in einer *spontan bestäubten Blüte*, wurde ein Fruchtknoten gefunden, dessen 6 Samenanlagen alle befruchtet worden waren. Diese Erscheinung hoher Fertilität dürfte sehr selten, und daß sie gefunden wurde darauf zurückzuführen sein, daß unter den spontanen Bestäubungen nur die größten Früchtchen zur Untersuchung ausgewählt wurden. Die oberste Samenanlage, die sonst nie befruchtet wurde, zeigte eine Eigentümlichkeit: der Pollenschlauch ist offenbar zuerst zur Basis des Fruchtknotens hinuntergewachsen und von dort aus, als alle unteren Samenanlagen „besetzt" waren, wieder hinauf in Richtung gegen den Griffel hin zurück, und um die letzte unbefruchtete Samenanlage herum, in deren Mikropyle eingewachsen und hat den Embryosack befruchtet (Abb. 4). Daß die Pollenschläuche vorerst an die Basis der Fruchtknotenhöhle wachsen dürfte entweder mit einer Anlockung durch die dort gelegenen Samenanlagen oder durch die Plazenten, die größere, von einem Schleim sezernierenden Epithel bedeckte Gewebewülste bilden, zusammenhängen. Die ganze Fruchtknotenhöhle ist, wie bei den Hydrocharitaceen üblich, von einem Schleim erfüllt, der allerdings nicht so zäh ist und die Untersuchung nicht so stört wie, nach den Angaben von R. Wylie (1941), der Schleim in den Früchten von *Vallisneria*.

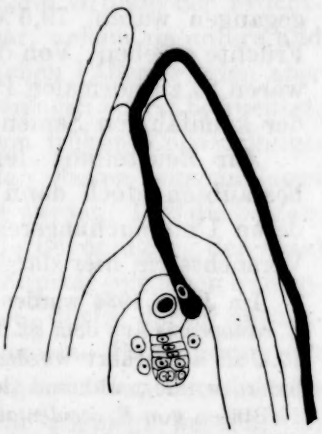


Abb. 4. *E. occidentalis*. Pollenschlauch der zuerst zur Basis des Fruchtknotens, da aber alle unteren Embryosäcke bereits befruchtet waren, wieder zur obersten Samenanlage hinauf und, ihr entlang, in ihre Mikropyle hineingewachsen ist. (Das äußere Integument ist nicht ringsum von gleicher Länge.) Vergr. 135:1.

Die spontanen Bestäubungen, erhalten durch Zusammenpflanzen von Klonen beiderlei Geschlechtes in dasselbe Kulturfaß, zeichneten sich, wegen der oben erwähnten Selektion der größten Früchte, allgemein durch hohe Fertilität aus. 60% der Samenanlagen waren befruchtet. Von den 4—6, meist 5 Samenanlagen waren einmal alle 6, zweimal 3, einmal 2 und nur zweimal nur eine befruchtet. Die Fertilität war in den mit arteigenem Pollen künstlich belegten Blüten wesentlich geringer, nur 29,2% der Samenanlagen waren befruchtet. Meist waren nur 4 Samenanlagen vorhanden, und von diesen wurde häufig nur der Embryosack

einer einzigen befruchtet. Die Fertilität dieser künstlich bestäubten Blüten dürfte der Fertilität unter natürlichen Bedingungen entsprechen, da alle bestäubten Blüten untersucht wurden und keine Selektion stattfand.

Eigenartig waren die Verhältnisse nach *Artbastardierung*. In früheren Untersuchungen (Tabelle 3 und M. ERNST-SCHWARZENBACH 1945a) wurde festgestellt, daß aus 44 Bestäubungen von *Elodea occidentalis* mit Pollen von *Elodea canadensis* 35 Früchte mit 85 Samen hervorgegangen waren, 79,5% der bestäubten Blüten hatten samenhaltige Früchte ergeben. Von den 85 Samen hatten 56 gekeimt und von diesen waren 24 zu normalen Pflanzen herangewachsen. Die Durchschnittszahl der keimfähigen Samen je Blüte war 1,27.

Zur Beurteilung der Fertilität müssen aber auch die gleichzeitig bestäubten, doch dann zu verschiedenen Zeiten fixierten Blüten und deren Untersuchungsresultate herangezogen werden, so daß die ganze Versuchsserie hier dargestellt sei:

Im Jahre 1934 wurden im Juli 46 Blüten von *E. occidentalis* mit Pollen von *E. canadensis* aus dem St. Lorenzstrom belegt. 36 Bestäubungen, die vom 11. bis 17. Juli ausgeführt wurden, ergaben 29 samenhaltige Früchte (von denen eine fixiert wurde), während deren 7 nicht ansetzten. Am 23. Juli wurden weitere 10 Blüten von *E. occidentalis* mit Pollen von *E. canadensis* belegt. Davon wurden 5 nach nur 24 Std und weitere 5 nach 3 Tagen fixiert. In den nach 24 Std fixierten enthielt eine Blüte keine Pollenschläuche in der Fruchtknotenhöhle, wohl aber die 4 anderen, die mit einer Ausnahme auch „Zysten" enthielten. Die Samenanlagen waren alle nicht befruchtet und die Embryosäcke in ihrer Entwicklung zum Teil zurückgeblieben. Die 5 nach 3 Tagen fixierten Blüten zeigten in ihren Fruchtknotenhöhlen weder Pollenschläuche, noch „Zysten", noch befruchtete Embryosäcke. Daß es sich bei den untersuchten Blüten trotzdem nicht um Inkompatibilität handeln kann, zeigt der Erfolg der kurz vorher ausgeführten gleichen Bestäubungen, die zu den 29 samenhaltigen Früchten geführt hatten. Möglicherweise könnte das am 24. und 25. Juli regnerische Wetter die Befruchtung der 10 am 23. Juli bestäubten Blüten gestört haben, doch haben 10 am selben Tage mit arteigenem Pollen belegte Blüten von *E. canadensis*, 3 Tage nach der Bestäubung fixiert, in 3 Blüten Samenanlagen mit befruchteten Embryosäcken ergeben, wurden also vom Wetter in der Befruchtung nicht gestört. Am 19. Juli 1935 wurden wiederum 12 Blüten von *E. occidentalis* mit Pollen von *E. canadensis* belegt und davon 4 nach 24 Std fixiert. Deren 3 enthielten Pollenschläuche und „Zysten" in den Fruchtknotenhöhlen, aber keine einzige Samenanlage war befruchtet. Von den übrigen 8 Blüten hat in der Folge eine keine Frucht angesetzt, die anderen 7 ergaben Früchte mit 1—4 Samen, doch haben diese nicht gekeimt oder sind kurz nach der Keimung gestorben.

Die bestäubten Blüten schon nach 24 Std zu fixieren, ist eigentlich etwas zu früh um allgemein Befruchtungsstadien zu finden. Da aber nach dieser Zeit in den Jahren 1934 und 1935 fixierte Blüten in der Fruchtknotenhöhle schon „Zysten" enthielten und die erst 3 Tage nach der Bestäubung fixierten Blüten auch keine Befruchtungen zeigten, ist das Fehlen von Befruchtungen nicht auf zu frühes Fixieren zurückzuführen, sondern es muß eine Störung der Fertilität vorliegen. Solche unabgeklärte Störungen finden sich aber auch bei arteigenen Bestäubungen: von 3 im Jahre 1933 künstlich mit arteigenem Pollen belegten und nach 24 Std

fixierten Blüten enthielten deren 2 je 5 Samenanlagen mit unreifen, 2- oder 4kernigen Embryosäcken, aber in den Fruchtknotenhöhlen Pollenschläuche bis zur Basis und „Zysten". In der 3. Blüte waren von 5 Samenanlagen eine befruchtet, eine hatte einen ausgereiften, aber nicht befruchteten Embryosack, die anderen 3 Samenanlagen hatten nur 2—4kernige Embryosäcke.

Im Gynaeceum von *Elodea canadensis* konnte eine Reihenfolge in der Reife und in der Befruchtung der Samenanlagen, die bei *E. occidentalis* so auffällig war, nicht mehr festgestellt werden. Die meist nur 3 Samenanlagen standen so dicht beieinander am Grunde der Fruchtknotenhöhle, daß es oft schwer festzustellen war, welche als untere und welche als obere zu bezeichnen seien. In manchen Fällen wurden aber auch ganz deutlich die apikal gelegenen Samenanlagen zuerst befruchtet. Ein Stehenbleiben der Embryosäcke auf einem frühen Entwicklungsstadium, wie es bei *E. occidentalis* so oft in den oberen Samenanlagen beobachtet wurde, konnte nur selten festgestellt werden. Daß die beiden, für *E. occidentalis* typischen Erscheinungen, die Bevorzugung der basal gelegenen und die stagnierende Entwicklung der apikal gelegenen Samenanlagen, bei *E. canadensis* so stark zurücktreten, dürfte darauf zurückzuführen sein, daß die bei *E. occidentalis* begonnene Rückbildung der Samenanlagen bei *E. canadensis* so weit fortgeschritten ist, daß die obersten Samenanlagen überhaupt nicht mehr angelegt werden. Es zeigt sich dies auch darin, daß von den 79 Samenanlagen in erfolgreich bestäubten Blüten von *E. occidentalis* (Tabelle 2) deren 23, d. h. 29,2% befruchtet wurden, während bei *E. canadensis* nach Tabelle 2 von 104 Samenanlagen deren 49, d. h. 47,1% befruchtet wurden. Von den nicht befruchteten Samenanlagen enthielten bei *E. occidentalis* ungefähr $^1/_5$ (11 von 56), bei *E. canadensis* etwa $^3/_7$ (24 von 55) voll entwickelte reife 8kernige Embryosäcke, d. h. bei *E. occidentalis* waren etwa $^4/_5$ und bei *E. canadensis* nur ungefähr $^4/_7$ der nicht befruchteten Samenanlagen steril oder auf einem frühen Entwicklungsstadium stehengeblieben.

Leichte Unterschiede zwischen beiden Arten bestehen auch in der Ausprägung eines schleimabsondernden Epithels auf der Innenseite der Karpelle. Während diese bei *E. occidentalis* meist auf die Plazenta um die Ansatzstellen der Samenanlagen beschränkt ist, ziehen bei *E. canadensis* wesentlich häufiger längere schmale Streifen solcher drüsiger Zellen von der Basis der Fruchtknotenhöhle aus hinauf bis in die basalen Teile des Griffelgewebes hinein. Es konnte aber nie beobachtet werden, daß Pollenschläuche diesen Zellreihen entlang wachsen, sie liegen immer frei in der Fruchtknotenhöhle, die vom schleimigen Sekret dieser Zellen erfüllt ist.

Wie bei *E. occidentalis* wurden auch bei *E. canadensis* von den bestäubten Blüten nur die weiter untersucht, die Pollenschläuche im Innern der Fruchtknoten aufwiesen, also solche, die sicher bestäubt worden

waren und bei denen sich Sterilitätsfaktoren also nicht schon auf der Narbe oder im Griffel auswirken konnten. Wenn sich schon Pollenschläuche in der Fruchtknotenhöhle befinden, ist es sehr selten, daß keine Samenanlagen befruchtet wurden. Ich konnte es nur 4mal feststellen, und zwar bei arteigener Bestäubung. Zweimal waren alle 3 Samenanlagen degeneriert, die beiden anderen Male waren 2—3 Tage seit der Bestäubung verstrichen und scheinbar nicht degenerierte Samenanlagen vorhanden, so daß die Ursache der Sterilität noch nicht abgeklärt ist.

Sehr erfolgreich waren die Artbastardierungen von *E. canadensis* mit Pollen von *E. occidentalis*, die in den Jahren 1945 und 1950 durchgeführt

Tabelle 3. *Aufzucht von Bastardpflanzen.*

	Bestäubte Blüten	Zahl der Früchte	Früchte je bestäubte Blüten %	Zahl der Samen	Samen je erhaltene Früchte	Erhaltene Pflanzen	Pflanzen je Frucht
E. canadensis ♀ × *E. occidentalis* ♂	62	37	59,6	62	1,67	45	1,22
E. occidentalis ♀ × *E. canadensis* ♂	44	35	79,5	85	2,43	24	0,69

wurden. Neun von 15, d. h. 60% der bestäubten Blüten zeigten zum mindesten Pollenschläuche in ihren Fruchtknotenhöhlen, meist aber schon mehrzellige Embryonen. Von den 31 Samenanlagen dieser Früchte waren 20, d. h. 64,5% befruchtet worden, nur 4 Embryosäcke waren reif, 8kernig, aber nicht befruchtet und nur weitere 7 degeneriert ohne befruchtet worden zu sein. Diese gute Fertilität steht in Übereinstimmung mit den Resultaten, welche frühere Bastardierungen (M. ERNST-SCHWARZENBACH 1945a) und die Heranzucht von Nachkommenschaften aus den gewonnenen Samen ergeben hatten.

Immerhin war damals die Fertilität der Kreuzung *E. occidentalis* ♀ × *E. canadensis* ♂ größer als die reziproke. Diese Unterschiede dürften aber auf Zufälle, wie sie bei Freilandversuchen ja immer vorkommen, zurückzuführen sein, wie dies schon zur Erklärung der Sterilität der untersuchten Kreuzbestäubungen *E. occ.* ♀ × *E. can.* ♂ ausgeführt wurde. Dies um so mehr, als die Zahl der aus den oben genannten Samen gewonnenen Pflanzen aus der Kreuzung *E. can.* ♀ × *E. occ.* ♂ mit 45, d. h. 1,22 je Frucht sehr viel höher ist, als aus der Kreuzung *E. occ.* ♀ × *E. can.* ♂ mit 24, d. h. 0,69 Pflanzen je Frucht. Demnach war aus der Kreuzung *E. occ.* ♀ × *E. can.* ♂ eine größere Zahl von Samen nicht keimfähig als aus der reziproken Kreuzung *E. can.* ♀ × *E. occ.* ♂. Die Sterilität aus der erstgenannten Verbindung hat sich also erst später nach der Samenbildung gezeigt.

Diese Störungen im Verlauf der späteren Entwicklung der aus Bastardierung gewonnenen Samen konnten aus Materialmangel noch nicht näher untersucht werden. Aus den Samenkeimungsversuchen ist vorerst nur zu sehen, daß die Keimfähigkeit der Samen aus arteigener Bestäubung ähnlich ist derjenigen aus artfremder Bestäubung. Sie beträgt nach Tabelle 4 65—87%.

Tabelle 4. *Keimfähigkeit der Samen aus arteigener und artfremder Bestäubung.*

	Zahl der Samen	Davon haben gekeimt
E. canadensis (St. Lorenzstrom) geselbstet	26	18 = 69,23%
E. occidentalis, geselbstet	27	19 = 70,37%
E. canadensis × *E. occidentalis*	62	54 = 87,10%
E. occidentalis × *E. canadensis*.	85	56 = 65,88%

Die Keimlinge aus arteigener Bestäubung wurden aus Platzmangel nicht weitergezogen, wohl aber die aus Bastardierung gewonnenen (Tabelle 3). An diesen zeigte es sich, daß die Vitalität der Keimpflanzen sehr gering ist und bis jetzt auch durch künstliche Beleuchtung nachts nicht gesteigert werden konnte. Nur sehr wenig Samen haben Pflanzen ergeben, deren Klone ein kräftiges vegetatives Wachstum zeigten. Die Zahl der Bastarde, die dann noch zur Blüte gelangt sind, hat im Lauf der Jahre zugenommen, doch ist ihre Blütenbildung von Jahr zu Jahr so unregelmäßig, und meist so spärlich, daß Rückkreuzungen und Analysen sehr erschwert wurden. Bis zum Jahre 1944 hatten von den 85 Samen aus Kreuzungen von *E. occ.* ♀ × *E. can.* ♂ 56 gekeimt, aber nur 24 normale Pflanzen ergeben, von denen nur 3 im Jahre 1945 noch lebten und auch heute noch am Leben sind. Von diesen hat eine erst 15 Jahre nach der Samenernte ♀ geblüht, während die beiden anderen noch nie Blüten erzeugt haben. Von den 62 Samen der Kreuzung *E. can.* ♀ × *E. occ.* ♂ haben 54 gekeimt und 45 Pflanzen ergeben, von denen 1945 noch 5, Ende 1950 noch 4 am Leben waren. Von diesen haben bis jetzt 3 geblüht, 2 ♂ erstmals 15 Jahre nach der Samenernte und eine ♀, erstmals 9 Jahre nach der Samenernte, die 4. Pflanze hat noch nicht geblüht.

6. Das Verhalten der Pollenschläuche in den Fruchtknoten.

Die Hemmungen, welche der wachsende Pollenschlauch in der Fruchtknotenhöhle erfährt, finden in der Bildung von Schlingen und Knäueln, doch häufiger „Zysten" ihren Ausdruck. Diese kugeligen bis ellipsoiden oder birnförmigen Anschwellungen der Pollenschlauchenden (Abb. 5b),

die schon WYLIE 1904 für *Elodea* und 1923 für *Vallisneria* beschrieben hat, enthalten im kontrahierten Plasma des Schlauches die Spermazellen und den vegetativen Kern des Pollens, die bei geeigneter Färbung sichtbar werden. Oft scheinen sie, besonders der vegetative Kern, schon in Degeneration begriffen. Es handelt sich offensichtlich um Pollenschläuche, die nicht weitergewachsen sind und ihr Wachstum mit einer kugeligen bis birnförmigen Anschwellung abgeschlossen haben, ohne daß die Pollenschlauchmembran geplatzt wäre. Ein frühes Stadium, in dem das Schlauchende bereits angeschwollen ist, die Zellen und Kerne aber noch nicht hineingewandert sind, zeigt Abb. 5a. Es sollte versucht werden, eine gewisse Gesetzmäßigkeit im Auftreten dieser „Zysten" festzustellen. Sie entstehen sowohl bei arteigener als auch bei artfremder Bestäubung. Bei Bestäubung mit artfremdem Pollen entstanden sie nur da, wo keine Befruchtung zustande kam, d. h. bei der Bestäubung von *E. occidentalis* mit Pollen von *E. canadensis*. Hier waren sie recht zahlreich, fehlten aber vollständig in der reziproken Kreuzung, die viele Befruchtungen ergab. Die „Zysten"bildung steht damit offensichtlich in Beziehung zum Nichtzustandekommen einer Befruchtung. Und da die „Zyste" erst in der Fruchtknotenhöhle entsteht — auf der Narbe und im Griffelgewebe werden sie nie gefunden — dürften es wohl von den Samenanlagen bzw. Embryosäcken ausgehende Einflüsse sein, welche das Weiterwachsen der Pollenschläuche verhindern und offenbar ziemlich rasch wirken, so daß sich der wachsende Schlauch staut. Weniger kräftig ist wohl die Einwirkung dort, wo sich Schläuche nur hin und her winden und nicht anschwellen. Die „Zysten"-bildung dürfte wohl so ausgelegt werden, daß nicht nur ein Stoff, der die Schläuche chemotropisch anziehen sollte, fehlt, sondern daß ein Hemmungsstoff gebildet wird. Weniger wahrscheinlich ist ein in den Pollenschläuchen selbst liegender Hemmungsfaktor, da in den Pollenkeimungsversuchen im hängenden Tropfen nie „Zysten" beobachtet wurden.

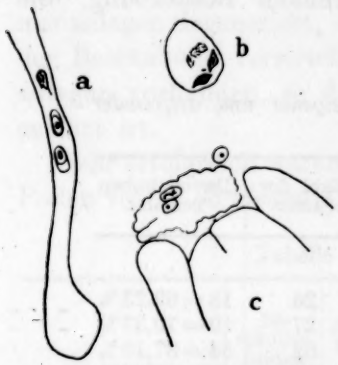


Abb. 5a—c. a und b Pollenschläuche von *E. canadensis* im Fruchtknotenraum von *E. occidentalis*. a Die Spitze des Pollenschlauches ist angeschwollen, generative Zellen und vegetativer Kern liegen noch im normalen Teil des Schlauches. b Der Inhalt des Schlauches hat sich in das angeschwollene Schlauchende zusammengezogen und bildet, von der Membran des Schlauches zusammengehalten, eine sog. Zyste. c Ein Pollenschlauch von *E. canadensis* ist bis zur Mikropyle einer degenerierten Samenanlage derselben Art vorgedrungen und hat dort keine „Zyste" gebildet, sondern ist geplatzt und hat sich zu einer länglich unregelmäßigen, nicht mehr von der Pollenschlauchmembran umgebenen Masse gestaut. Der Kern der einen generativen Zelle ist offenbar beim Schneiden aus der Plasmamasse herausgerissen worden. Die andere generative Zelle und der vegetative Kern liegen im Plasma. a und b Vergr. 190:1, c 135:1.

Auch bei Bestäubungen mit arteigenem Pollen traten „Zysten", sowohl bei *E. occidentalis* als bei *E. canadensis* hauptsächlich dann auf, wenn relativ wenige oder keine Samenanlagen befruchtet worden waren. Sehr selten waren sie in den stark fertilen spontanen Bestäubungen von *E. occidentalis*. Die Zysten entstehen somit nicht erst dann, wenn alle Samenanlagen schon „besetzt" sind. Denn von 7 Früchten, in denen alle Samenanlagen befruchtet wurden, enthielten nur deren 2 einige Zysten.

Statt frei in der Fruchtknotenhöhle eine „Zyste" zu bilden, kann der Pollenschlauch auch direkt vor der Mikropyle anschwellen: In Abb. 5c ist eine der 3 Samenanlagen aus einer Frucht von *E. canadensis* dargestellt, die 24 Std nach ihrer Bestäubung mit arteigenem Pollen fixiert worden ist. Die Basis des Griffelkanals ist von Pollenschläuchen erfüllt, zudem wachsen solche durch die ganze Fruchtknotenhöhle bis ganz zu ihrer Basis herab. Im oberen Teil der Höhle haben sie mehrere Zysten gebildet, im unteren Teil wirre Knäuel gewundener Schläuche. Die sehr rasch gewachsenen Pollenschläuche, die offenbar auf der Narbe und im Griffelgewebe keinen Hemmungen begegnet sind, kamen in eine Fruchtknotenhöhle, deren Samenanlagen alle degenerierte Embryosäcke enthielten. Die zuoberst gelegene Samenanlage ist schon vor der Bildung des Embryosackes degeneriert, an der zweitobersten kann man zwar schon 8 Kerne erkennen, aber der Embryosack ist noch nicht in seine typischen Kerne und Zellen differenziert. Diese beiden Samenanlagen vermochten keine Schläuche anzuziehen. Vor der dritten, der abgebildeten Samenanlage, hat sich das Ende eines Pollenschlauches vor der Mikropyle gestaut. Vegetativer Kern und Spermazellen, deren eine wohl beim Schneiden aus dem Plasma herausgerissen wurde, sind sichtbar, das Pollenschlauchplasma aber nicht zu einer „Zyste" abgerundet, denn die Schlauchmembran ist geplatzt und das Plasma ausgetreten. Dieser Schlauch wurde offenbar von dem erst in einem späteren Entwicklungsstadium degenerierten Embryosack beeinflußt, denn im Embryosack dieser untersten Samenanlage sind Synergiden, Eizelle, Polkerne und Antipoden noch deutlich erkennbar, aber von dunkel gefärbtem Zellinhalt, dem Merkmal der Degeneration, umgeben. Diese ausgereifte Samenanlage vermochte offenbar noch einen Pollenschlauch anzulocken, der aber vor der Mikropyle sein Wachstum eingestellt hat und geplatzt ist.

Den Zysten von *Elodea* ähnliche Abnormitäten des Pollenschlauches haben P. Branscheidt (1930), A. Osterwalder (1910) und E. R. Sears (1937) beschrieben. Branscheidt schildert bei *Vitis vinifera* und bei *Paeonia spec.* (S. 380) „daß die Schläuche zunächst glattes Wachstum zeigen, dann aber an der Spitze kugelig anschwellen und meist ihr Wachstum einstellen"; ferner: „Der Durchmesser dieser Blasenbildungen

erreicht mitunter das 3—10fache des Pollenkorns". An seinen Objekten beobachtet er sie allerdings im Griffel und nicht wie wir in der Fruchtknotenhöhle. OSTERWALDER schreibt nur von keulenförmigen Anschwellungen der Pollenschläuche im Griffel nach Selbstbestäubungen von Birnen- und Apfelsorten, ohne Abbildungen zu geben. Eine etwas ähnliche Erscheinung zeigt SEARS auf seiner Tafel I, Fig. 3, doch handelt es sich hier um einen Pollenschlauch von *Brassica oleracea var. italica*, der als Zeichen der Inkompatibilität auf der Narbe platzt.

Die Besonderheit der *Elodea*-„Zysten" liegt darin, daß sie weder auf der Narbe noch im Griffelgewebe, sondern im Innern der Fruchtknotenhöhle entstehen und zwar nicht erst in nächster Nähe der Samenanlagen. Die „Zysten"bildung ist somit eine nicht häufig beschriebene und noch nicht abgeklärte Erscheinung. Ob der Ausdruck „Zyste" zutreffend ist, dürfte bezweifelt werden, da es sich ja nicht um ein durch eine besonders dicke Membran abgekapseltes Organ handelt. Warum die einen Schläuche „Zysten" bilden, die anderen nicht und im einen Falle viele, im anderen keine „Zysten" gebildet werden, ist noch problematisch. Auf jeden Fall scheint die „Zysten"bildung bei Bastardierung häufiger als bei arteigener Bestäubung, obschon die Fertilität der Kreuzbestäubungen nicht wesentlich geringer ist als die der Selbstbestäubungen.

Weitere Hemmungen des Pollenschlauchwachstums zeigen folgende Beispiele: In einer Blüte von *E. occidentalis*, die 4 Samenanlagen enthielt, waren deren 3 degeneriert. In der 4., die durchaus normal aussah, war ein Pollenschlauch wohl in die Mikropyle eingedrungen, statt aber an deren Basis durch die an die Mikropyle angrenzenden Schichten des Nuzellus hindurch zu wachsen um zu den Synergiden zu gelangen, war der Schlauch zwischen Nuzellus und innerem Integument seitlich ein Stück weit um den Nuzellus herumgewachsen. Der Pollenschlauch wurde in diesem Falle erst vor seinem Eintritt in den Nuzellus gehemmt. Aus Richtung vom Halsteil her war zudem noch ein zweiter Pollenschlauch bis zum Rand des äußeren Integumentes herabgedrungen.

Bei *E. canadensis* fand sich eine Samenanlage, in welche mehr als ein Pollenschlauch eingedrungen waren, wie dies auch WYLIE (1904) beobachtet hat. Der eine scheint durch die Mikropyle in die eine Synergide eingedrungen zu sein, der andere ist zwischen innerem Integument und Nuzellus erst ein Stück herabgewachsen, dann in weitem Bogen um den Nuzellusscheitel herum auf dessen andere Seite und von dort wieder in die Mikropyle hineingewachsen. Da es nicht möglich war, die beiden gewundenen Schläuche in der Mikropyle streng auseinanderzuhalten, könnten die Verhältnisse auch so liegen, daß der längere Schlauch nach seinem Umweg in die Synergide eingedrungen ist, während der andere Schlauch in der Mikropyle blieb.

Die Fertilität der beiden *Elodea*-Arten hängt somit in hohem Maße von ihren Samenanlagen bzw. Embryosäcken ab. Weitaus der größte Teil der nicht zur Befruchtung gekommenen Embryosäcke dürfte degeneriert sein, doch ist diese Degeneration morphologisch oft nicht leicht festzustellen. Degeneration kann ganz allgemein in verschiedenen Entwicklungsstadien erfolgen: 1. sehr früh, bevor sich der Embryosack

fertig entwickelt hat, so daß er auf dem 1—4kernigen Stadium der Makrospore stehen bleibt, eventuell schon vor der Bildung der Makrospore, 2. nachdem sich ein 8kerniger Embryosack gebildet hat, 3. erst nach der Befruchtung.

Man erkennt die Degeneration manchmal an den unklaren Kernkonturen oder daran, daß der Inhalt der Embryosackkerne homogen und ohne irgendwelche Struktur ist, im Gegensatz zu den anderen Kernen der Samenanlagen. Hauptsächlich aber erkennt man sie an den dunkel gefärbten Schlieren von degeneriertem Zellinhalt am Rande des Embryosackes. Dabei kann es vorkommen, daß sich die Nuzelluszellen vergrößern. Wenn aber die Degeneration auf einem Stagnieren in der Entwicklung der Embryosäcke beruht, bleibt die ganze Samenanlage auf der dem unentwickelten Stadium entsprechenden Größe, was sich auch darin äußern kann, daß die Integumente unausgewachsen bleiben.

Ein eigenartiges Degenerationsprodukt ist ein Embryosack in dem neben einer Zelle 4 freie Kerne von abnormer Struktur liegen. Das Chromatin ist zu einem wandständigen Klumpen zusammengeballt, die Kernmembran ist sehr stark ausgeprägt. Durch die Mikropyle wächst ein Pollenschlauch, der sich vorher mehrmals gewunden hat. Der Größe der Samenanlage nach, kann es sich nicht um einen 4kernigen Embryosack handeln. Auch trägt der Embryosack am Scheitel neben der abgegrenzten Zelle eine stark gefärbte Masse, die sehr wohl aus degenerierten Synergiden bestehen könnte. Das Bild erweckt den Eindruck, als ob ein 8kerniger Embryosack eine eigenartige Rückbildung erfahren hätte. Da die Erscheinung nur einmal beobachtet wurde, konnte sie noch nicht abgeklärt werden.

Degenerationen *nach* der Befruchtung konnten bisher nicht beobachtet werden. Die Endospermbildung scheint durchwegs ungehemmt vor sich zu gehen und soll in einer nächsten Arbeit beschrieben werden. Auch an den Embryonen waren, trotz ihrer in Keimungsversuchen festgestellten geringen Keimfähigkeit, keine Degenerationserscheinungen zu sehen.

Die näher beschriebenen Beispiele dürften wohl die Ansicht bestärken, daß die häufigsten Hemmungen, welche die partielle Sterilität von *Elodea* bedingen, von den Embryosäcken ausgehen. Die Stoffe, welche die Keimung der Pollenkörner auslösen, sind offenbar von denjenigen, welche die Samenanlagen ausscheiden, unabhängig. Wenn der Pollen einmal gekeimt hat und auf dem Grunde der Narbenäste wächst, scheint er auf keine neuen Widerstände zu stoßen. Wenn auch das Wachstum der Pollenschläuche im Griffelgewebe noch nicht abschließend untersucht ist, so scheint doch jetzt schon wahrscheinlich, daß ihm auch hier keinerlei bedeutende Hemmungen entgegenstehen. Wesentliche Hemmungen scheinen erst in der Fruchtknotenhöhle wieder wirksam zu werden. Zum Teil ist es die sichtbare Degeneration der Embryosäcke, welche das Weiterwachsen hemmt, zum Teil sind es wohl unsichtbare

Degenerationen und physiologische Zustände, welche sowohl nach arteigener als nach artfremder Bestäubung, statt zur Befruchtung zu führen, eine Abrundung der Pollenschläuche zu den sog. Zysten bewirken.

Zusammenfassung.

Strasburgers Versuche, die Pollentetraden von *Elodea* genetisch zu analysieren sind, wie meine eigenen Vorversuche, an der geringen Zahl der erhaltenen Samen gescheitert. Seither ist von anderen Autoren mehrfach vermutet worden, daß eine partielle Sterilität der Pollenkörner dies Versagen erkläre. Zur Feststellung der Ursachen der geringen Fertilität von 2 *Elodea*-Arten ist nun nicht nur der Pollen, sondern auch der weibliche Gametophyt untersucht und der Verlauf des Pollenschlauchwachstums studiert worden.

Die 4 im Tetradenverband verbleibenden Pollenkörner von *Elodea canadensis* und *occidentalis* zeigen keinerlei Unterschiede in ihrer Morphologie und Entwicklungsgeschichte. Daß meist nur 1—2 Pollenkörner derselben Tetrade auf den Narben keimen, beruht darauf, daß bei spontaner Bestäubung meist nur 1—2 Pollenkörner mit den Narbenpapillen in Berührung kommen. Nur solche Pollenkörner, welche Narbenpapillen berühren, gelangen zur Keimung. Wenn alle 4 Pollenkörner derselben Tetrade diese Bedingung erfüllen, vermögen auch alle 4 zu keimen. Die Keimung jedes einzelnen Pollenkornes ist somit rein physiologisch und nicht genetisch oder zytologisch bedingt.

Die geringe Fertilität der beiden *Elodea*-Arten, die bei arteigener wie bei artfremder Bestäubung nicht wesentlich verschieden ist, dürfte daher nur zum kleineren Teil auf die besondere Beschaffenheit ihres Pollens, sein Verbleiben im Tetradenverband und die dadurch oft verhinderte Berührung eines Teiles der Pollenkörner mit den Narbenpapillen zurückzuführen sein. In Anbetracht der geringen Zahl von Samenanlagen dürfte die Zahl der auf die Narben gelangenden und die Papillen berührenden Pollenkörner meist groß genug sein, um die Befruchtung aller befruchtungsfähigen Samenanlagen zu gewährleisten.

Die geringe Fertilität der beiden Arten beruht in erster Linie auf der geringen Zahl, im weiteren auf der häufigen Degeneration eines Teiles der Samenanlagen. Die größere Zahl der Samenanlagen von *E. occidentalis* wird durch eine prozentual höhere Zahl von degenerierten Samenanlagen und eine geringere Keimfähigkeit der Samen zum Teil kompensiert. Außer offensichtlicher Degeneration der Samenanlagen in verschiedenen, oft sehr frühen Stadien ihrer Entwicklung, meist vor der Befruchtung, dürften auch scheinbar normale Samenanlagen unbefruchtet bleiben, weil von ihnen Hemmungen ausgehen, die zur Bildung von kugeligen Anschwellungen der Pollenschläuche („Zysten")

führen. Die Natur dieser Hemmungen, die sowohl in inter- wie in intraspezifischen Bestäubungen wirken, und die Ursachen, welche zur Degeneration und zur Bildung von Hemmungsstoffen führen, konnten noch nicht abgeklärt werden. Das gleiche gilt von der weiteren starken Hemmung der Fertilität, welche darin besteht, daß relativ wenig Samen keimten und von den gekeimten Samen nur sehr wenige sich zu normalen kräftigen und blühenden Pflanzen entwickelten.

Literatur.

BRANSCHEIDT, P.: Zur Physiologie der Pollenkeimung und ihrer experimentellen Beeinflussung. Planta (Berl.) **11**, 368 (1930). — BRINK, R. A., and D. C. COOPER: The endosperm in seed development. Bot. Rev. **13**, 423, 479 (1947). — ERNST-SCHWARZENBACH, M.: Kreuzungsversuche an Hydrocharitaceen. Arch. Klaus-Stiftg Erg.-Bd. zu **20**, 22 (1945a). Festschr. A. ERNST. — Zur Blütenbiologie einiger Hydrocharitaceen. Ber. Schweiz. bot. Ges. **55**, 33 (1945b). — Zur Sterilitätsfrage bei phanerogamen Wasserpflanzen. 10. Jahresber. der Schweiz. Ges. für Vererbungsforschg. Arch. Klaus-Stiftg **25**, 483 (1950). — HADORN, E.: Begriffe und Termini zur Systematik der Letalfaktoren. Arch. Klaus-Stiftg **24**, 105 (1949). Festschr. O. SCHLAGINHAUFEN. — KUHN, E.: Zur Physiologie der Pollenkeimung bei Matthiola. Planta (Berl.) **27**, 304 (1937). — MARIE-VICTORIN, FR.: L'Anacharis canadensis. Histoire et solution d'un imbroglio taxonomique. Contrib. Lab. Bot. Univ. Montreal **1931**, Nr 18, 43. — MATSUURA, H., u. T. SUTÔ: Contributions to the idiogramm study in Phanerogamous plants I. Journ. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ., Ser. V Bot. **5**, 33 (1935). — OSTERWALDER, A.: Blütenbiologie, Embryologie und Entwicklung der Frucht unserer Kernobstbäume. Landw. Jb. **1910**, 917. — SANTOS, J. K.: Differentiation among chromosomes in *Elodea*. Bot. Gaz. **75**, 42 (1923). — Determination of sex in *Elodea*. Bot. Gaz. **77**, 353 (1924). — SCHOCH-BODMER, H.: Methoden zur Ermittlung der Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche im Griffel. Verh. schweiz. naturforsch. Ges. **1932**, 368. — SEARS, E. R.: Cytological phenomena connected with self-sterility in the flowering plants. Genetics **22**, 130 (1937). — ST. JOHN, HARALD: The genus *Elodea* in New England. Rhodora **22**, 17 (1920). — STRASBURGER, E.: Über geschlechtsbestimmende Ursachen. Jb. Bot. **48**, 427 (1910). — TROLL, W.: Beiträge zur Morphologie des Gynaeceums. I. Über das Gynaeceum der Hydrocharitaceen. Planta (Berl.) **14**, 1 (1931). — WULFF, H. D.: Über die Ursache der Sterilität des Kalmus (*Acorus Calamus* L.). Planta (Berl.) **31**, 478 (1940/41). — WYLIE, R. B.: The morphology of *Elodea canadensis*. Bot. Gaz. **37**, 1 (1904). — Some aspects of fertilization in Vallisneria. Amer. J. Bot. **28**, 169 (1941).

Frau Prof. Dr. M. ERNST-SCHWARZENBACH, Zürich, Künstlergasse 16, Institut für allgemeine Botanik.

Planta, Bd. 39, S. 570—588 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen.

TAGESPERIODISCHE WACHSTUMS- UND TURGOR-SCHWANKUNGEN AN GEWEBEKULTUREN.

Von

WILHELM ENDERLE.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. April 1951.)

I. Einleitung.

Die Aufgabe dieser Arbeit ist es, festzustellen, ob eine endogene Tagesrhythmik auch noch in isolierten Geweben ablaufen kann. Das soll durch Wachstums- und Turgormessungen an Karottengewebe untersucht werden.

An isolierten Organen hat WHITE schon im Jahre 1938 tagesperiodische Schwankungen in der Abgabe des Blutungssaftes beobachten können. KANDLER berichtete in neuester Zeit (1951) über eine Wachstumsrhythmik bei in vitro kultivierten Maiswurzeln, nachdem die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit schon kurz veröffentlicht worden waren (BÜNNING und ENDERLE).

Die Feststellung einer endogenen Rhythmik an noch kleineren Einheiten als den Organen ist deshalb wichtig, weil sie zeigen kann, ob die Periodizität erst durch das Zusammenwirken mehrerer Gewebe zustande kommt, oder ob sie unabhängig von solchen Korrelationen bestehen kann. Wenn letzteres der Fall sein sollte, so können trotzdem Unterschiede zu den beobachteten Rhythmen bei Organen oder ganzen Pflanzen auftreten, da ja die Nachbargewebe einen vorhandenen Rhythmus auch stören oder gar aufheben könnten. Weiterhin soll in dieser Arbeit untersucht werden, in welcher Stärke sich endogene und äußere Faktoren beim Zustandekommen der Rhythmik beteiligen. Denn in letzter Zeit wurden wieder Rhythmen bekannt, die sich in dieser Hinsicht stark voneinander unterscheiden. So ist die von M. HEIMANN (1950) untersuchte Guttationsrhythmik stärker von den Außenfaktoren abhängig als die lange bekannte Rhythmik der Blattbewegungen bei *Phaseolus multiflorus* (vgl. FLÜGEL und dort zitierte Literatur).

II. Methodik.

a) Herstellung der Gewebekulturen.

Bei der Herstellung der Gewebekulturen hielt ich mich im großen und ganzen an die Arbeitsmethode von GAUTHERET. Nur in manchen weniger wichtigen Punkten wurde davon abgewichen, hauptsächlich dort, wo mir nicht die nötigen Mittel und Einrichtungen zur Verfügung standen Als Ausgangsmaterial dienten Rüben von *Daucus carota*.

Als *Nährboden* wurde eine KNOPsche Nährlösung in $^1/_2$facher Konzentration verwendet, die mit einer Spurensalzlösung (modifizierte BERTHELOTsche Lösung) versetzt war und einige organische Stoffe enthielt: H_2O bidest. 1000 cm³, $Ca(NO_3)_2$ 0,50 g, KNO_3 0,125 g, $MgSO_4$ 0,125 g, KH_2PO_4 0,125 g, modifizierte BERTHELOTsche Lösung 10 Tropfen, Agar-Agar 13 g, Saccharose 30 g, Cysteinchlorhydrat 0,01 g, Aneurin (Vitamin B_1) 0,001 g, β-Indolylessigsäure 0,00001 g.

Modifizierte BERTHELOTsche Lösung: H_2O 1000 cm³, $FeSO_4$ 50 g, $MnSO_4$ 2 g, KJ 0,5 g, $NiCL_2$ 0,05 g, $CoCl_2$ 0,05 g, $TiOSO_4$ 0,20 g, $ZnSO_4$ 0,10 g, $CuSO_4$ 0,05 g, $BeSO_4$ 0,10 g, Borsäure 0,05 g, H_2SO_4 (66° Baumé) 1 cm³ (66° Baumé entsprechen einem spezifischen Gewicht von 1,841 bei 15°).

Die abfiltrierte Lösung wurde meist in große Reagensgläser (aus Jena-Glas, Öffnungsweite 20—24 mm) bis auf $^1/_3$ abgefüllt. Diese wurden am nächsten und übernächsten Tag bei 100° je 30 min lang im Autoklaven sterilisiert.

b) Das Sterilisieren der Karotten und die Explantation von kleinen Stückchen.

Die äußeren Regionen der Mohrrübe wurden mit einer konzentrierten Chlorkalklösung sterilisiert und sorgfältig unter sterilen Bedingungen entfernt. Daraufhin wurden die Organe in kleinere Stücke zerschnitten, meist in Scheibchen von 3—5 mm Dicke. Sie wurden mit der ursprünglich apikalen Fläche auf den Nährboden gelegt, da in ihnen ein polarer Wuchsstofftransport vorhanden ist. Dieser ist jetzt vom Nährboden zum Scheibchen gerichtet. Der Nährboden braucht bei dieser Explantation nicht alle vorher beschriebenen Stoffe zu enthalten, da diese offenbar noch in genügender Menge in dem Stückchen vorhanden sind. So blieben die Spurenelemente, Cystein, Aneurin und β-Indolylessigsäure fort; jedoch wurde $FeCl_3$ (0,001 g je Liter) zugesetzt. Zur Erhaltung der Feuchtigkeit wurden die Öffnungen der Kulturgefäße, die mit Zellstoffwattestöpseln verschlossen waren, noch mit einer doppelten Lage von Aluminiumfolie umhüllt.

c) Die Entstehung des Kallus und seine Übertragung auf einen neuen Nährboden.

Meist begann schon nach etwa 5 Tagen die Kambiumzone des Karottenstückchens zu sprossen. Daraus entwickelte sich allmählich ein ringförmiger Wulst, der sich über den ganzen Holzteil ausbreitete. Wenn die Stückchen auf diese Weise nach $1^1/_2$—2 Monaten voluminöse Kalli von 3—5 mm Höhe gebildet hatten, wurde zur ersten Übertragung geschritten. Um ein Gewebe zu erreichen, das so homogen wie möglich, und reich an meristematischen, sprossungsfähigen Zellen ist, wurde, der Vorschrift GAUTHERETs folgend, der Kallus vom differenzierten Muttergewebe getrennt und in kleinere Stücke zerschnitten. Diese Gewebestückchen wurden auf einen Nährboden gelegt, der jetzt sämtliche oben beschriebene Bestandteile enthielt.

Die späteren Übertragungen wurden im Prinzip auf die gleiche Weise durchgeführt. Hierbei wurden die abgestorbenen und kranken Teile an der Peripherie der Gewebestückchen und die entstandenen Wurzeln entfernt. Die Übertragungen wurden alle $1^1/_2$—2 Monate vorgenommen.

GAUTHERET und NOBECOURT pflanzten Gewebestückchen um, die $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ der Größe der Mutterkultur besaßen. Meine Gewebekulturen vergrößerten sich nicht so stark. Die umgepflanzten Stückchen vermehrten sich auf etwa das Fünffache der Ausgangsgröße. Auch zeigte sich bei mir ein sehr unterschiedliches Wachstum der einzelnen Gewebekulturen, was GAUTHERET auch schon beobachtet hat.

d) Methoden der Wachstumsmessungen an Gewebestückchen.

Um Wachstumsmessungen in kürzeren Zeitabschnitten durchführen zu können, ist es notwendig, Methoden zu finden, die es erlauben, kleine Zuwachswerte noch einigermaßen genau zu messen.

In solchen Fällen dürfte eine gravimetrische Methode immer die genaueste sein. Hierbei tauchten jedoch große Schwierigkeiten auf, die erst im zweiten Jahr der Arbeit überwunden wurden. Mikroskopische Messungen haben gegenüber den gravimetrischen den Vorteil, daß der Verlauf des Wachstums durch die Messungen selbst viel weniger gestört wird.

Mikroskopische Messung der Flächenänderung. Um möglichst das gesamte Volumenwachstum zu erfassen, versuchte ich zunächst, mit einem normalen Mikroskop den Flächeninhalt eines Gewebestückchens von oben und mit einem Horizontalmikroskop den Flächeninhalt desselben Gewebestückchens von der Seite her zu messen. Beim zweitgenannten Messungsschritt ergaben sich jedoch zahlreiche technische Schwierigkeiten, die mich zwangen, mich mit der Flächenmessung zu begnügen. Die Gewebestückchen befanden sich in einer Kammer, die bei schwacher Vergrößerung unter das Mikroskop gebracht wurde. Die Umrisse des Gewebestückchens wurden mit Hilfe eines Zeichenokulars abgezeichnet. Später wurde der Flächeninhalt ausplanimetriert. Für die Messungen wurde stets Rotlicht verwendet.

Die Kammer bestand aus einem gewöhnlichen Objektträger, auf den ein 6 mm hoher Glasring geklebt war. Der vom Ring umschlossene Raum wurde etwa 3 mm hoch mit dem Nährboden angefüllt. Seitlich befand sich im Glasring eine kleine Öffnung, die mit einem kleinen Wattestopfen verschlossen wurde. Dadurch wurde der Gasaustausch des Gewebestückchens mit der Umgebung ermöglicht.

Bei meiner Meßmethode sehe ich hauptsächlich 2 Fehlerquellen. Die größere liegt in dem Abzeichnen des Umrisses eines Gewebestückchens. War der Umriß scharf, so war der mögliche Fehler sicher nicht groß. Aber bei vielen Ge-

webestückchen war der Umriß an manchen Stellen etwas verschwommen. Dies ließ sich nicht vermeiden, da die beobachteten Gewebestückchen eine Dicke von 1—2 mm hatten. Dünnere Stückchen zu nehmen, war nicht ratsam, da diese wesentlich schlechter wachsen. Weiterhin durfte man während des Versuchs die Einstellung des Mikroskops nie ändern; denn dann hätten sich ganz andere Umrisse ergeben. Um den hierbei entstehenden Fehler etwas zu verkleinern, habe ich den Umriß jedes Gewebestückchens zweimal abgezeichnet und dann den Mittelwert genommen. Öfter wollte ich die Umrisse nicht abzeichnen, da dann die Beobachtungszeit wieder zu lang geworden wäre.

Die zweite Fehlerquelle liegt beim Ausplanimetrieren der gezeichneten Umrisse. Da diese verhältnismäßig groß waren, so dürfte diese Fehlerquelle ziemlich klein sein.

Um etwas Klarheit über die Größe dieser Fehler zu bekommen, wurde ein Gewebestückchen mit mittelscharfen Umrißlinien 20mal hintereinander abgezeichnet. Es ergab sich daraus, daß man bei der Messung mit einem möglichen Fehler von 0,55% der ganzen Fläche rechnen muß.

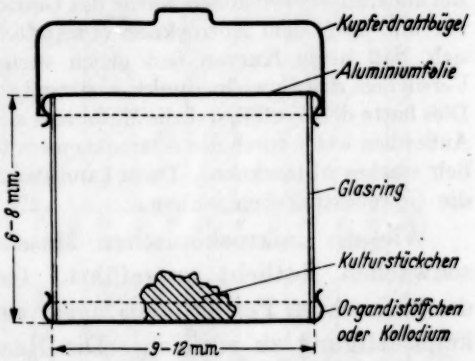


Abb. 1. Glaskammer zur Anlage von Kulturen für gravimetrische Messungen.

Messung der Gewichtsänderung. Da bei den mikroskopischen Messungen nur eine Fläche eines Gewebestückchens gemessen werden konnte, wollte ich versuchen, auch noch die Gewichtsänderungen zu bestimmen.

Es kam natürlich nicht in Frage, das Gewebestückchen allein aus dem Kulturglas zu nehmen, zu wägen und wieder auf den Nährboden zu legen. Hierbei wären die einwirkenden Reize bestimmt zu groß gewesen, um ein einigermaßen klares Bild von den normalen Gewichtsänderungen zu bekommen. Diese Reize auf ein Minimum herabzusetzen, war ein wesentlicher Faktor für das Gelingen dieser Methode. Eine weitere wichtige Bedingung war, alle Manipulationen bei den Messungen unter peinlichst sterilen Bedingungen auszuführen. Um beiden Forderungen etwas gerecht zu werden, wurden kleine Schälchen konstruiert, in die die Gewebestückchen gelegt wurden (Abb. 1). Sie bestanden aus einem Glasring, dessen unterer Rand etwas ausgewölbt war. Diese untere Seite wurde meist mit einem feinen Organdistöffchen mittels eines Seidenfadens verschlossen; einige Male wurde sie auch mit einer dünnen Kollodiumhaut bespannt. Am oberen Rand waren entweder kleine Löcher eingebohrt oder Häkchen angebracht, um einen dünnen, bügelartig gebogenen Kupferdraht aufzunehmen. In das Schälchen wurde das Gewebestückchen gelegt. Oben wurde das Schälchen mit einer Aluminiumfolie oder Kollodiumhaut zugedeckt, um eine Infektion hinauszuzögern. Die Schälchen wurden auf den Nährboden gestellt, der sich in ausreichend großen Reagensgläsern befand.

Zu jeder Wägung wurden die Schälchen mit einer Pinzette aus den Reagensgläsern steril herausgenommen und an den Hebelarm einer Torsionswaage ($^1/_{10}$ mg genau) gehängt. Um den Hebelarm der Torsionswaage war ein kleines Gehäuse angebracht, das bei den Wägungen verschlossen wurde. Der Hebelarm und das Gehäuse wurden vor den Messungen mit absolutem Alkohol desinfiziert.

Bei den ersten Versuchen glaubte ich, die am Organdistöffchen anhaftende Flüssigkeit vor den Wägungen mit Filtrierpapier abtrocknen zu müssen. Durch Kontrollversuche mit leeren Schälchen ergab sich, daß die Menge dieser Flüssigkeit nur bei den ersten Messungen verschieden, dann aber ziemlich konstant war. Bei anderen Vorversuchen wurde das Gewicht der Schälchen mit Gewebestückchen vor und nach dem Abtrocknen ermittelt. Außer den ersten Messungen zeigte es sich, daß beide Kurven fast gleich verliefen. Deshalb wurde in den meisten Versuchen das Gewicht direkt bestimmt, also ohne die Flüssigkeit abzutrocknen. Dies hatte den Vorteil, daß die Meßzeiten sich von etwa 6 auf etwa 3 min verkürzten. Außerdem kann durch das Abtrocknen ein manueller Fehler entstehen (unterschiedlich starkes Abtrocknen). Dann kann das Abtrocknen vielleicht sogar als Reiz auf die Gewebestückchen wirken.

Wie die mikroskopischen Messungen, so wurden auch diese im schwachen Rotlicht ausgeführt. Gegenüber den sterilen Kammern, die in feuchten Petrischalen lagen, war es hier schwierig, eine Feuchtigkeitssättigung zu erzielen. Die Reagensgläser waren wie üblich mit einer doppelten Lage von Aluminiumfolie (auf dem Zellstoff) verschlossen. Außerdem wurden im Thermostaten einige mit Wasser gefüllte Petrischalen aufgestellt. Aus Raummangel konnte in dem Thermostaten bei den Versuchen kein Thermohygrograph untergebracht werden.

III. Der Verlauf des Flächenwachstums.

a) 12: 12stündiger Licht-Dunkel-Wechsel[1].

Versuchsbedingungen: Der Versuch Nr. 1 wurde in einem Kellerraum ausgeführt, in dem die Temperatur von 19—21° schwankte. Die Gewebestückchen waren vor und während des Versuchs dem normalen Tageslicht (kein direktes Sonnenlicht) von 7 Uhr morgens bis 19 Uhr abends ausgesetzt; die übrige Zeit wurde verdunkelt.

Am 20. 6. 49 abends 21 Uhr wurden 16 Gewebestückchen von ehemaligen Kalli in die sterilen Kammern eingepflanzt (also 1. Übertragung). Die Wachstumsmessungen begannen am nächsten Tag um 14^{30} Uhr und dauerten genau 4 Tage. Es wurde in unterschiedlichen Zeitabständen gemessen (zwischen 4 und 7 Std).

Von den 15 Kulturen (eine wurde infiziert) seien nur die an zweien erzielten Ergebnisse näher erläutert. Diese Gewebestückchen besaßen sehr scharfe Ränder. Die beiden Zuwachskurven sind in Abb. 2 oben aufgezeichnet. Auf der Abszisse ist die Tageszeit und auf der Ordinate

[1] Die Dunkelstunden sind immer unterstrichen.

der jeweilige Flächeninhalt in Skalenteilen aufgetragen. Man sieht bei beiden Kurven deutlich einen tagesperiodischen Verlauf des Wachstums. Zwischen 23 und 6 Uhr nimmt die Fläche der Gewebestückchen eher ab als zu. Bei Kultur Nr. 14 ist zwischen 11 und 16 Uhr eine weitere Verzögerung des Wachstums festzustellen. Diese Verzögerung wollen wir kurz „Zwischenhemmung" nennen, da sie zwischen den großen Wachstumshemmungen der Nächte liegt. Bei Kultur Nr. 15 kommt dies nicht zum Ausdruck.

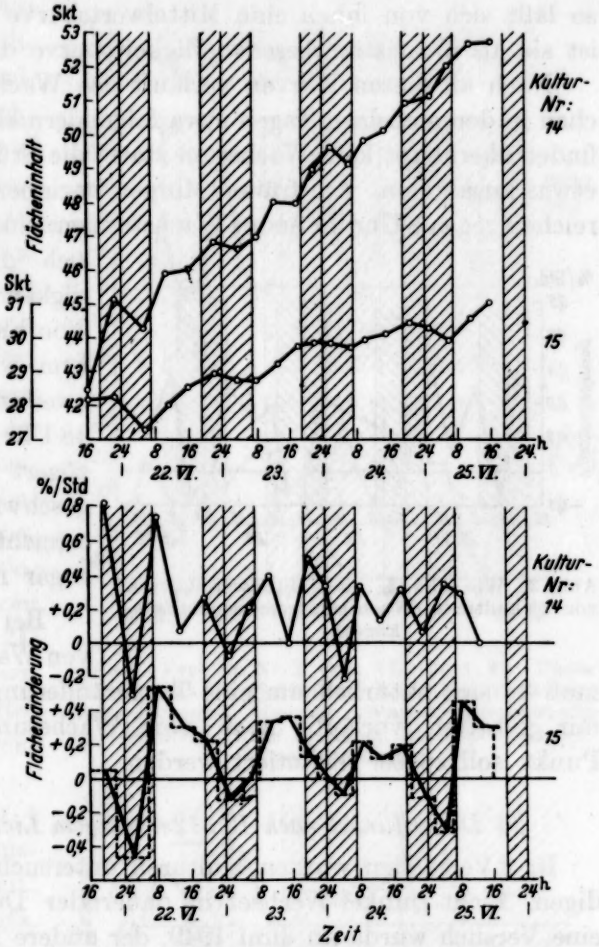


Abb. 2. Versuch Nr. 1 vom 21.—25. 6. 49. Licht-Dunkel-Wechsel 12 : 12stündig. Mikroskopische Messung. Oben die normalen Zuwachskurven zweier Kulturen, unten die Wachstumsgeschwindigkeitskurven derselben Kulturen. Dunkelperioden schraffiert.

Um die Unterschiede des Wachstums deutlicher erscheinen zu lassen, wurden Wachstumsgeschwindigkeitskurven aufgezeichnet. Bei diesen ist auf der Abszisse die Tageszeit und auf der Ordinate die jeweilige Flächenänderung in Prozent je Zeiteinheit eingetragen. Man erhält hierbei ursprünglich sog. Treppenpolygone (siehe Abb. 2 unten). Diese sind jedoch wenig anschaulich. Deshalb wurden die Mittelpunkte der einzelnen „Treppen" miteinander verbunden, so daß eine fortlaufende Kurve zustande kommt. (Bildung eines Häufigkeitspolygons aus einem Treppenpolygon, vgl. Weber.) Verläuft die Kurve oberhalb der Abszisse, so zeigt dies eine Zunahme des Flächeninhaltes an; verläuft sie unterhalb der x-Achse, so bedeutet dies eine Abnahme des Flächeninhaltes. Maxima der Geschwindigkeitskurve liegen dort, wo in der normalen Zuwachskurve die Steigung am größten ist. Bei den Wachstumsgeschwindigkeitskurven sieht man die vorher schon erwähnten Ergebnisse wesentlich deutlicher.

Die übrigen 13 Kulturen zeigten einen ähnlichen Kurvenverlauf, die Wachstumshemmungen zeigten sich auch bei ihnen zu den genannten Tageszeiten. Da die Kurven der 15 Kulturen alle synchron verlaufen, so läßt sich von ihnen eine Mittelwertskurve aufzeichnen. In Abb. 3 ist sie als Wachstumsgeschwindigkeitskurve dargestellt.

Nach all diesen Kurven verläuft das Wachstum der Gewebestückchen in den einzelnen Tagen etwa folgendermaßen: Nachts gegen 2 Uhr findet überhaupt kein Wachstum statt; die Stückchen schrumpfen eher etwas zusammen. Am frühen Morgen beginnen sie zu wachsen und erreichen gegen 8 Uhr ihr erstes Wachstumsmaximum. Hernach verringert sich die Wachstumsgeschwindigkeit etwa bis gegen 13 Uhr. Von hier ab nimmt das Wachstum wieder zu bis zu einem zweiten Maximum, das gegen 18 Uhr erreicht wird. Nun verzögert sich die Wachstumsgeschwindigkeit nochmals und erreicht nach Mitternacht oft sogar negative Werte.

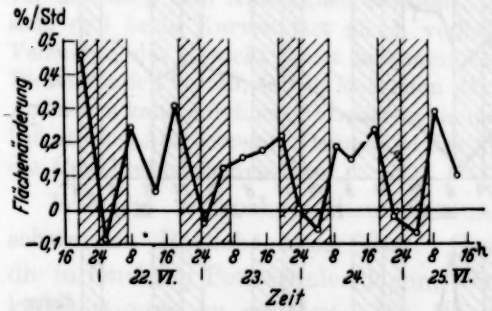


Abb. 3. Wie Abb. 2, aber Mittelwertskurven von 15 Kulturen (Wachstumsgeschwindigkeitskurve).

Bei der scheinbar negativen Wachstumsgeschwindigkeit muß es sich natürlich um eine Turgoränderung handeln. Doch sei es mir gestattet, vorläufig noch vom Wachstum zu sprechen. Dieser Punkt soll später diskutiert werden.

b) Dauerdunkel nach 12 : 12stündigem Licht-Dunkel-Wechsel.

In 2 Versuchen wurden Kulturen untersucht, die nach 12 : 12stündigem Licht-Dunkel-Wechsel in dauernder Dunkelheit standen. Der eine Versuch wurde im Juni 1949, der andere im Oktober 1950 durchgeführt. Da die Bedingungen nicht ganz gleich waren, möchte ich beide Versuche getrennt behandeln.

Der Versuch Nr. 2 wurde in einem neugebauten Konstantraum ausgeführt. Leider schwankte auch hier die Temperatur um $\pm$ 0,4°. Die Temperaturkurve ist deshalb bei jeder Wachstumskurve mit eingezeichnet. Als Lichtquelle dienten 5 Neonentladungsröhren (15 W), die an der Decke des Konstantenraums etwa $^1/_2$ m über den Kulturen hingen. Die verwendeten Gewebestückchen stammen auch hier von ehemaligen Kalli (erste Übertragung). Acht Kulturen, die einem 12 : 12stündigen Licht-Dunkel-Wechsel (von 8 Uhr morgens bis 20 Uhr abends hell) ausgesetzt waren, wurden 2 Tage lang unter diesen Bedingungen gemessen. Von hier ab verblieben sie in völliger Dunkelheit. Das Wachstum wurde so noch 2 weitere Tage beobachtet.

Es seien hier wiederum nur die Kurven von 2 Kulturen angeführt (Abb. 4), außerdem eine Mittelwertskurve (Abb. 5) von 6 Kulturen (die restlichen 2 waren infiziert). Sie zeigen einen ähnlichen Verlauf wie die entsprechenden Kurven des Versuchs Nr. 1. Der Rhythmus wird in der Dunkelheit fortgesetzt. Betrachtet man den Kurvenverlauf der ersten 2 Tage, an denen also Licht eingewirkt hat, so vermißt man vor allem die Wachstumshemmung um die Mittagszeit. Es kann sein, daß sie nicht hervortritt, weil an ungünstigen Zeitpunkten gemessen wor den ist. Innerhalb der Zwischenräume von 5 Std können sich ja manche Wachstumsänderungen vollziehen. Bei den Einzelkurven sieht man aber, daß am 21. und 22. 7. eine solche Zwischenhemmung angedeutet ist, und bei der Durchschnittskurve am 20. 7.

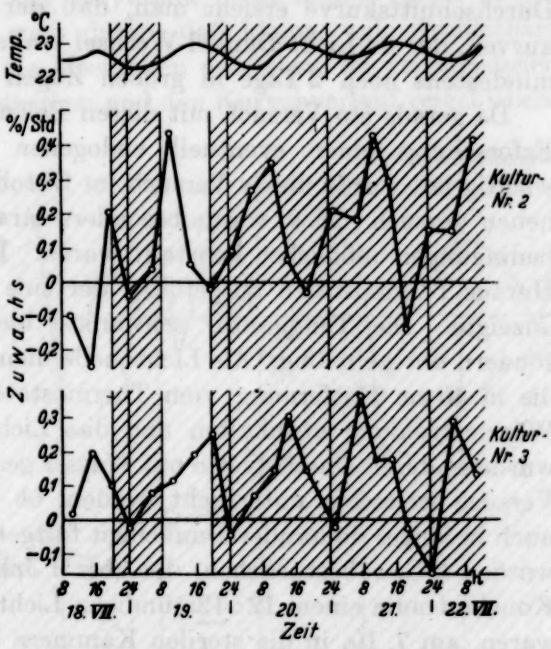


Abb. 4. Versuch Nr. 2 vom 18.—22. 7. 49. Dauerdunkel nach 12 : 12stündigem Licht-Dunkel-Wechsel. Mikroskopische Messung. Wachstumsgeschwindigkeitskurven zweier Kulturen. Zuwachs bedeutet Flächenänderung.

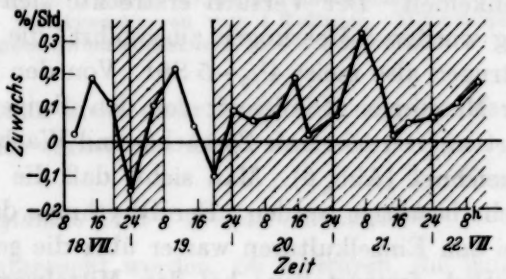


Abb. 5. Wie Abb. 4, aber Mittelwertskurve von 6 Kulturen (Wachstumsgeschwindigkeitskurve). Zuwachs bedeutet Flächenänderung.

Kurve Nr. 3 in Abb. 4 zeigt alle Wachstumsminima um dieselbe Zeit: ungefähr 1 Uhr nachts. Kurve Nr. 2 zeigt am 1. Tag einige unregelmäßige Schwankungen. Diese wurden auch an anderen Kurven öfters beobachtet. Sie dürften wohl auf Wundreize u. dgl. zurückzuführen sein, die die Gewebestückchen beim Umpflanzen empfangen haben. Weiterhin tritt bei Kurve 2 und der Mittelwertskurve das zweite Minimum etwas verfrüht ein, anstatt um 1 Uhr nachts schon um 20 Uhr abends. Dies dürfte wohl irgendeinem besonderen, unbekannten Reiz zuzuschreiben sein, dem Kultur Nr. 3 nicht ausgesetzt war. Die beiden weiteren Minima folgen jeweils 24 Std später (also auch

verfrüht). Dies zeigt, daß, wenn einmal durch irgendeinen Reiz eine Verschiebung des normalen Kurvenverlaufs eingetreten ist, diese Phasenverschiebung in dauernder Dunkelheit beibehalten bleibt. Aus der Durchschnittskurve ersieht man, daß der Synchronismus der Einzelkurven, der im Licht-Dunkel-Wechsel vorhanden ist, in der Dunkelheit mindestens noch 2 Tage in groben Zügen beibehalten wird.

Da gerade ein Versuch mit diesen Beleuchtungsbedingungen für die Erforschung einer eventuell endogenen Wachstumsrhythmik sehr wichtig ist, wurde dieser Versuch im Oktober 1950 wiederholt. In dem neuen Versuch (Nr. 9) wurde besonders darauf geachtet, daß die Außenbedingungen möglichst konstant waren. Er wurde deshalb in einem Heräus-Thermostaten ausgeführt, der eine Temperatur von $24 \pm 0{,}2^0$ anzeigte. Die Temperatur schwankte hierbei nicht tagesperiodisch, sondern unregelmäßig. Als Lichtquelle diente eine 60-Watt-Glühlampe, die in 40 cm Entfernung vom Thermostaten aufgestellt war. Um die Wärmestrahlung abzuhalten und das Licht etwas diffus zu machen, wurde es durch eine Küvette mit Wasser geschickt. Es sollte bei diesem Versuch weiterhin untersucht werden, ob der beobachtete Rhythmus auch in länger dauernder Dunkelheit fortgesetzt wird. Für den Versuch wurden 6 Gewebestückchen, die über 1 Jahr alt und in dieser Zeit im Konstantraum einem 12 : 12stündigen Licht-Dunkel-Wechsel ausgesetzt waren, am 7. 10. in die sterilen Kammern eingepflanzt. Am 8. 10. um 7 Uhr wurde mit den mikroskopischen Messungen begonnen. Die Lichtperioden am 8. und 9. 10. dauerten diesmal von 6 Uhr morgens bis 18 Uhr abends. Ab 9. 10. abends 18 Uhr verblieben die Kulturen in Dunkelheit. Der Versuch erstreckte sich insgesamt über 9 Tage. Je Tag wurden 5 Messungen ausgeführt; die Zeitabstände der Messungen betrugen also meist $4^1/_2$—5 Std. Von den 6 Kulturen wurden im Laufe der Messungen 2 infiziert; von den übrigen 4 Kulturen wurden Mittelwertskurven (normale Zuwachs- und Wachstumsgeschwindigkeitskurve) gezeichnet (Abb. 6). Man sieht, daß die Ergebnisse des vorigen Versuchs bestätigt werden. Der Rhythmus dauert in der Dunkelheit fort. Bei den Einzelkulturen war er über die gesamte Dauer der Dunkelheit deutlich festzustellen; bei den Mittelwertskurven wird er ab 15. 10. undeutlich, da von hier ab die Rhythmen der Einzelkulturen nicht mehr genau synchron verlaufen.

Faßt man die Ergebnisse der letzten 3 Versuche zusammen, so erkennt man, daß durch den Licht-Dunkel-Wechsel ein Synchronismus der tagesperiodischen Wachstumsschwankungen hergestellt wird. Die auffallenden Wachstumsminima kommen in die Nachtzeit zwischen 23 und 4 Uhr zu liegen. (Es ist noch zu berücksichtigen, daß der Lichtbeginn bei den 3 Versuchen zeitlich nicht zusammenfällt.) Bringt man die Gewebestückchen in dauernde Dunkelheit, so wird der Rhythmus

mindestens noch 7 Tage fortgesetzt. Auch der synchrone Verlauf der Einzelkurven dauert in der Dunkelheit einige Tage an (5—6 Tage); daraufhin gehen die Kurven aber auseinander. Dies mag einesteils daran liegen, daß die Schwingungsdauer der Rhythmik nicht immer genau 24 Std beträgt, andererseits aber auch daran, daß kleine, unkontrollierbare Reize, wie sie z. B. durch die Messungen entstehen, zu verschiedenen Zeiten auf die Stückchen einwirken und den Kurvenverlauf verschieben.

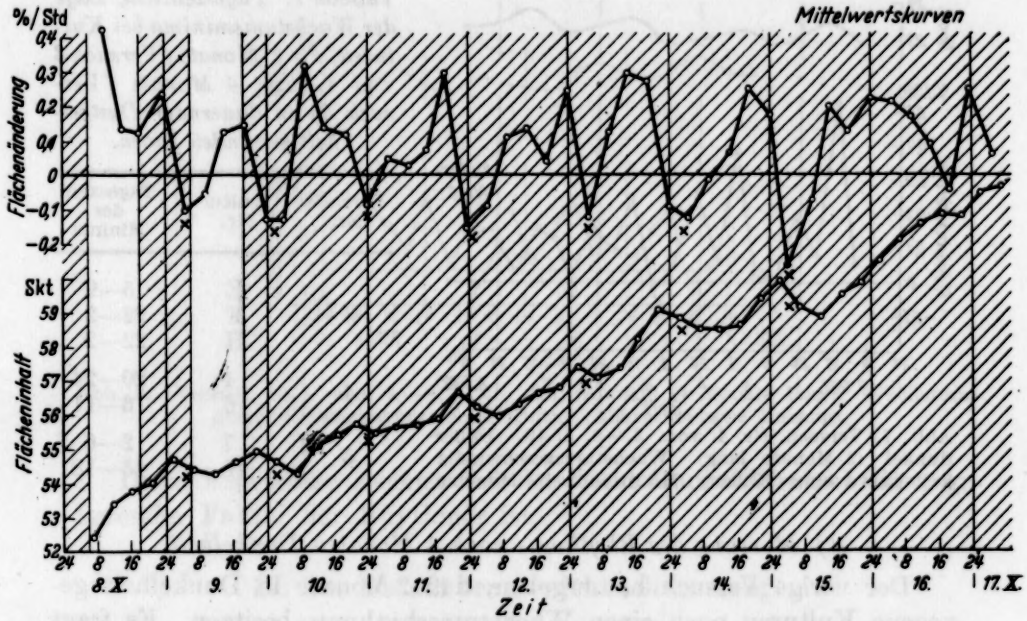


Abb. 6. × = Hauptminimum. Versuch Nr. 9 vom 8.—17. 10. 50. Dauerdunkel nach 12 : 12-stündigem Licht-Dunkel-Wechsel. Mittelwertskurven von 4 Kulturen. Mikroskopische Messung. Oben Wachstumsgeschwindigkeitskurve, unten Zuwachskurve.

Ein neuer Synchronismus kann nicht mehr hergestellt werden, da ein regulierender Faktor, wie ihn vorher das Licht darstellte, fehlt.

c) Messung des Rhythmus nach 2 Monaten Dunkelheit.

In 2 Versuchen sollte untersucht werden, ob Kulturen, die längere Zeit in vollständiger Dunkelheit aufbewahrt worden sind, ebenfalls periodische Schwankungen in der Wachstumsgeschwindigkeit aufweisen. Dazu wurden von Kalli, die sich in 2 Monaten bei Dunkelheit gebildet hatten, in einem Versuch (Nr. 3) 8, in anderen (Nr. 4) 6 Gewebestückchen zur Messung umgepflanzt. Die nicht ganz einfachen Manipulationen beim Umpflanzen wurden unter schwacher Lichteinwirkung vorgenommen, die ungefähr 5—10 min dauerte. Beide Versuche wurden im Konstantraum durchgeführt, die Temperatur schwankte um $\pm 0{,}5^{0}$. Selbst bei diesen Dunkelkulturen traten periodische Änderungen in der

Wachstumsintensität auf. Ein Beispiel ist in Abb. 7 zu sehen, bei dem auch die Zwischenhemmungen wieder stark zum Vorschein kommen. Ein Vergleich von 5 gut wachsenden Kulturen ergab: Die Wachstumsminima sind an keine bestimmte Tageszeit gebunden, sondern können zu jeder Tageszeit liegen (s. Tabelle 1, Versuch 3 und 4). Die Wachstumsschwankungen verlaufen also im Dauerdunkel nicht synchron.

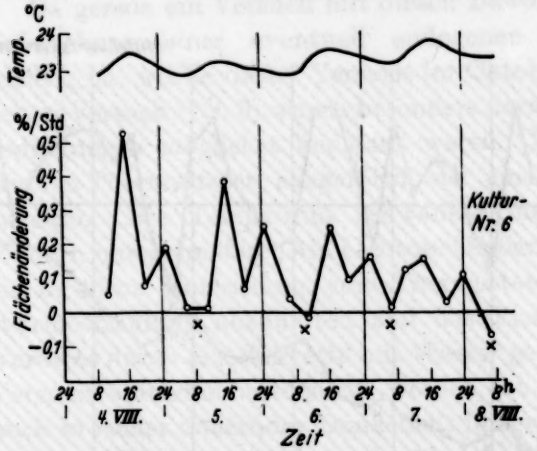


Abb. 7. Versuch Nr. 4 vom 4.—8. 8. 49. Dauerdunkel (2 Monate lang). Wachstumsgeschwindigkeitskurve einer Kultur. Mikroskopische Messung

Tabelle 1. *Tageszeitliche Lage der Wachstumsminima bei Kulturen, die 2 Monate (Versuch 3 und 4) bzw. 4 Monate (Versuch 5) in dauernder Dunkelheit gestanden haben.*

Versuch Nr.	Kultur Nr.	Tageszeit der Minima
3	E	5—9
	F	22—2
	H	22—2
4	4	20—24
	6	6—11
5	7	2—6
	10	15—18

d) Messung des Rhythmus nach 4 Monaten Dunkelheit.

Der vorige Versuch hat ergeben, daß 2 Monate in Dunkelheit gezogene Kulturen noch einen Wachstumsrhythmus besitzen. Es fragt sich nun, ob dieser Rhythmus auch bei älteren Kulturen beibehalten wird, oder ob er allmählich aufhört. Zur Beantwortung dieser Frage wurden 4 Gewebestückchen, die 4 Monate lang in Dunkelheit gewachsen waren (von der Explantation an gerechnet), in die sterilen Kammern eingepflanzt und gemessen (Versuch Nr. 5). Abb. 8 zeigt die Wachstumsgeschwindigkeitskurve von einer als Beispiel herausgegriffenen Kultur. Man erkennt auch bei ihr noch eine deutliche Rhythmik. Diese ist wie bei den schon besprochenen Kurven aufgebaut, auch meist mit Zwischenhemmungen. Die Minima liegen zwischen 2 und 6 Uhr und bei einer Vergleichskultur zwischen 15 und 18 Uhr; sie sind also auch hier nicht an eine bestimmte Zeit gebunden (s. Tabelle 1).

Wenn man die Ergebnisse all dieser Versuche zusammenfaßt, so ergibt sich folgendes Bild: in Dunkelheit hat jedes Gewebestückchen für sich einen Wachstumsrhythmus, dessen Periode ungefähr 24 Std beträgt. Durch sog. Zwischenhemmungen kommt eine Kurve zustande, die oft einem 12-Std-Rhythmus ähnlich sieht. In einer Wachstumsperiode zeigt sich ein stark ausgeprägtes Wachstumsminimum, das sich

jeden Tag zu ungefähr demselben Zeitpunkt wiederholt, und meist ein weiteres Minimum (Zwischenhemmung), dessen Größe in den einzelnen Kulturen stark schwankt. Die Haupt- und Nebenminima sind über den ganzen Tag regellos verstreut. Wirkt Licht halbtägig auf die Gewebestückchen ein, so werden die Einzelkurven so verschoben, daß ein synchroner Kurvenverlauf zustande kommt. Dabei kommen die Hauptwachstumsminima in die Nacht zwischen 0 und 4 Uhr zu liegen, wenn das Licht morgens etwa um 7 Uhr beginnt.

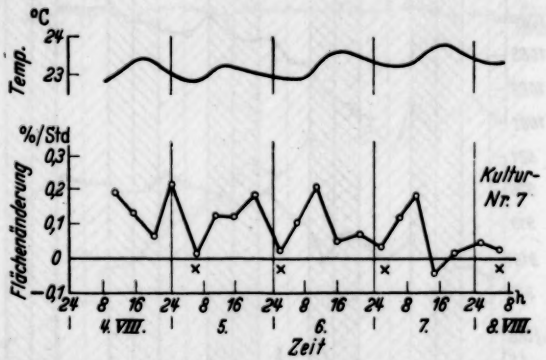


Abb. 8. Versuch Nr. 5 vom 4.—8. 8. 49. Dauerdunkel (4 Monate lang). Wachstumsgeschwindigkeitskurve einer Kultur. Mikroskopische Messung.

Diese Ergebnisse zeigen, daß der Licht-Dunkel-Wechsel ein regulierender Faktor der Rhythmik ist.

IV. Der Verlauf der Gewichtsschwankungen.

a) 12 : 12stündiger Licht-Dunkel-Wechsel.

Zum Versuch (Nr. 8) wurden 4 einjährige Licht-Dunkel-Kulturen verwendet, die sich in großen Kulturschälchen befanden. Die Schälchen waren diesmal nicht mit einem Organdistöffchen verschlossen, sondern mit einer dünnen Kollodiumhaut. Dies hatte den Vorteil, daß weniger Feuchtigkeit an den Schälchen haften blieb als an denen, die mit Organdistöffchen bespannt waren; es besaß jedoch den großen Nachteil, daß die meisten Kulturen ihr Wachstum einstellten. Irgendein Stoff der Nährlösung hatte demnach die Kollodiumhaut nicht passieren können. Bei diesen Kulturen wurde deshalb die Kollodiumhaut leicht durchstochen. Die Versuchsbedingungen waren folgende: Temperatur 24 $\pm$ 0,2°; Licht von 6 Uhr morgens bis 18 Uhr abends. Die Beleuchtung war bei allen gravimetrischen Versuchen dieselbe wie die bei den Versuchen mit mikroskopischen Wachstumsmessungen benutzte. Das Kulturschälchen wurde in Zeitabständen von 4—5 Std an den Hebelarm der Torsionswaage gehängt und gewogen. Das Schälchen wurde nicht abgetrocknet, so daß die Messung ziemlich rasch verlief. Die Gewichtsdifferenzen bis

zur nächsten Messung waren sehr klein (einige Zehntel Milligramm). Es scheint, daß die Kollodiumhaut nicht sehr günstig für das Wachstum der Gewebestückchen ist.

In Abb. 9 sind die Zuwachs- und Wachstumsgeschwindigkeitskurven (prozentuale Gewichtszunahme von Schälchen und Kultur in der Zeit-

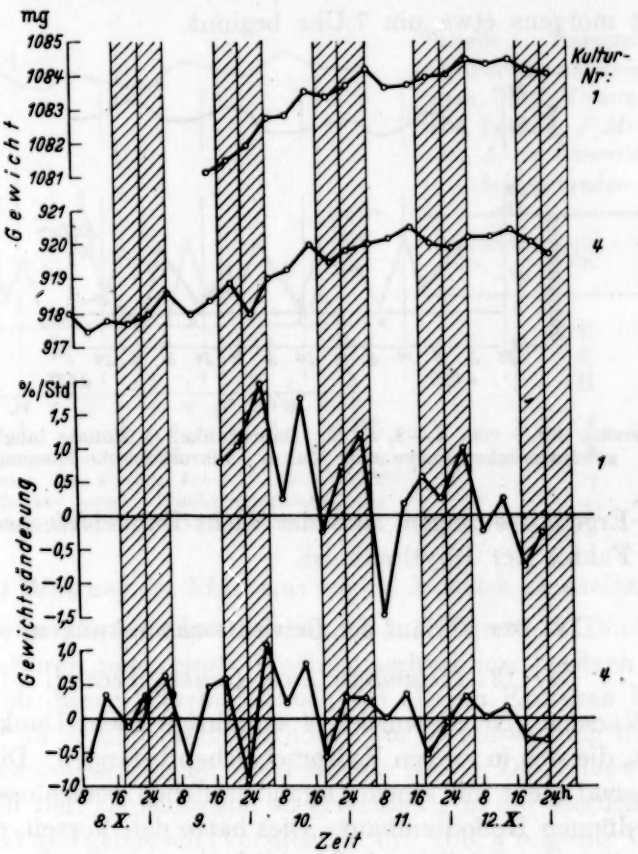


Abb. 9. Versuch Nr. 8 vom 8.—12. 10. 50. 12 : 12stündiger Licht-Dunkel-Wechsel. Gravimetrische Messung. Oben Zuwachskurven, unten Wachstumsgeschwindigkeitskurven von 2 Kulturen.

einheit) von 2 Kulturen aufgezeichnet. Man sieht, daß die Kurven nicht stetig verlaufen, sondern tagesperiodische Schwankungen vorhanden sind. Es hat den Anschein, daß nach dem Lichtbeginn um 6 Uhr morgens das Wachstum regelmäßig verringert wird. Die Wachstumsgeschwindigkeitskurven zeigen dementsprechend zwischen 8 und 10 Uhr ein Wachstumsminimum. Ein zweites Minimum folgt zwischen 18 und 24 Uhr. Zwischen einem Haupt- und einem Nebenminimum kann man bei diesen 2 Kurven nicht unterscheiden.

b) Dunkelheit nach 12 : 12stündigem Licht-Dunkel-Wechsel.

Die Versuchsanordnung in diesem Versuch (Nr. 10) unterschied sich von der des vorigen nur darin, daß kleine, mit Organdistöffchen bespannte Kulturschälchen verwendet wurden. Nach 2 Tagen Licht-Dunkel-Wechsel verblieben die Kulturen im Dauerdunkel. Die beiden Kurven von einer Kultur sind in Abb. 10 dargestellt. Wie beim vorigen

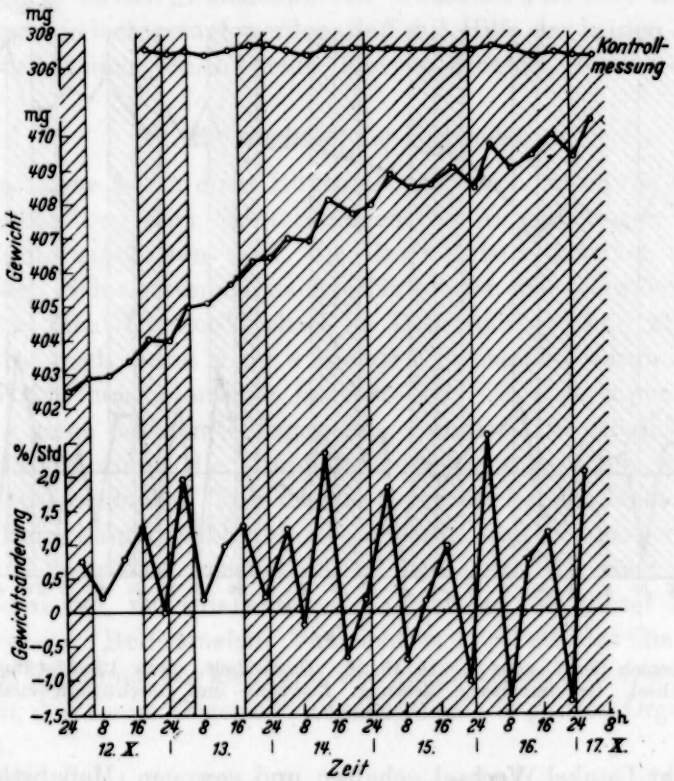


Abb. 10. Versuch Nr. 10 vom 12.—16. 10. 50. Dauerdunkel nach 12 : 12stündigem Licht-Dunkel-Wechsel. Gravimetrische Messung. Oben Kontrollmessung, Mitte und unten Zuwachs- und Wachstumsgeschwindigkeitskurve einer Kultur.

Versuch traten die Minima im Licht-Dunkel-Wechsel zwischen 8 und 10 Uhr und zwischen 22 und 24 Uhr ein. Sie wurden in der anschließenden Dunkelheit zur selben Tageszeit beibehalten. Der Rhythmus wird also in der Dunkelheit fortgesetzt und zwar in ähnlicher Weise wie beim Licht-Dunkel-Wechsel. Eine Verschiebung des Kurvenverlaufs in den 3 Tagen Dunkelheit kam nicht zustande.

c) Dauernde Dunkelheit.

Kurz erwähnt sei ein Versuch (Nr. 6), bei dem auch in länger dauernder Dunkelheit ein Rhythmus festzustellen war. Die Minima waren an keine bestimmte Tageszeit fixiert und lagen 20—24 Std auseinander.

d) Längere Dunkelheit, dann 12 : 12stündiger Licht-Dunkel-Wechsel.

Bei diesem Versuch (Nr. 7) sollte untersucht werden, wie der Rhythmus im Dunkeln in den regulierten Rhythmus bei Licht-Dunkel-Wechsel übergeht. Die in die Schälchen eingepflanzten Kulturen wurden zunächst $2^1/_2$ Wochen in den dunklen Thermostaten gestellt. Erst danach wurden die Kulturen $2^1/_2$ Tage lang im Dunkeln und dann einige Tage im 12 : 12stün-

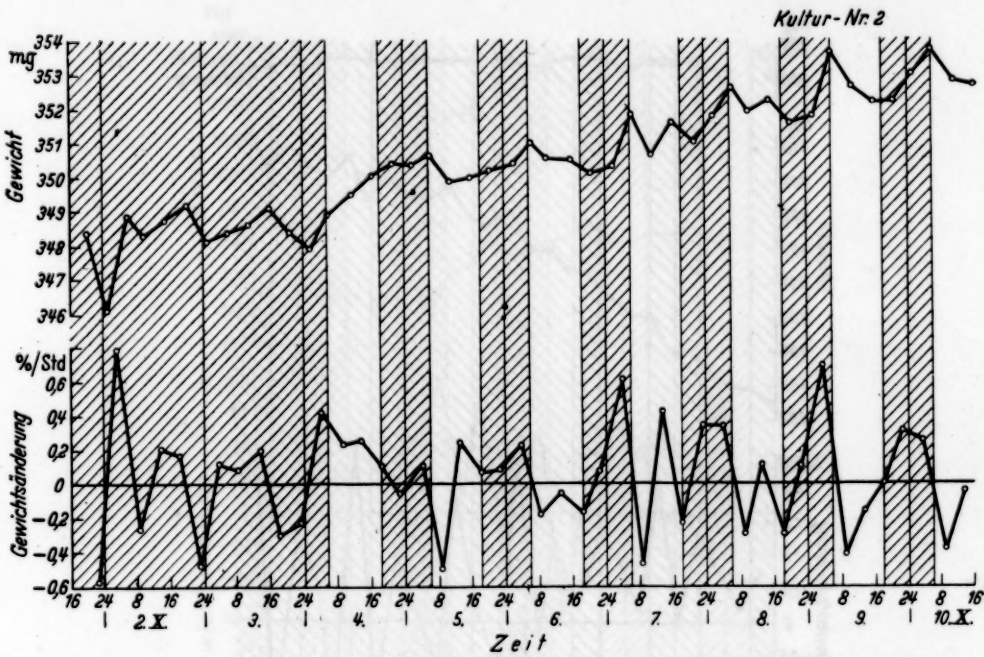


Abb. 11. Versuch Nr. 7 vom 1.—10. 10. 50. Dunkelheit, dann 12 : 12stündiger Licht-Dunkel-Wechsel. Gravimetrische Messung. Zuwachs- und Geschwindigkeitskurve einer Kultur.

digen Licht-Dunkel-Wechsel gehalten und gewogen (Meßabstände 4 bis 5 Std). In der anfänglichen Dunkelheit zeigte sich ein Rhythmus. Die Einzelkurven verliefen asynchron. In der ersten Lichtperiode (4. 10.) trat eine Verschiebung des Kurvenverlaufs ein, so daß in der darauffolgenden Dunkelphase der bei Licht-Dunkel-Wechsel übliche Kurvenverlauf schon wieder hergestellt war. Dieser wurde in den folgenden Tagen beibehalten. Es ist anzunehmen, daß durch die beiden Beleuchtungswechsel der ersten Lichtperiode der Kurvenverlauf einreguliert worden ist. Ein Beispiel von diesen Kulturen ist in Abb. 11 zu sehen.

V. Vergleich des „Flächenrhythmus" mit dem „Gewichtsrhythmus".

Vergleicht man die Kurven, die mit Hilfe der beiden Methoden im Licht-Dunkel-Wechsel erhalten worden sind, so fällt auf, daß die Wendepunkte auf den Kurven der Gewichtsänderungen denen der

Kurven von den Flächenänderungen um einige Stunden vorauseilen. Es ist wohl nicht angebracht, daraus Schlüsse ziehen zu wollen. Denn die Meßabstände waren doch etwas zu groß, um bei beiden Methoden einen ganz exakten Kurvenverlauf zu liefern.

Bei den „Gewichtskurven" kann, wie schon erwähnt, nicht zwischen einem Haupt- und Nebenminimum (Zwischenhemmung) unterschieden werden, wie es bei den „Flächenkurven" meist der Fall war. Zusammenfassend kann jedoch gesagt werden, daß mit Hilfe der beiden Methoden keine grundsätzlich verschiedenen Kurven erhalten worden sind.

VI. Besprechung der Ergebnisse.

Die endogene Natur einer Rhythmik zeigt sich, wenn die Rhythmik nach Ausschaltung aller Schwankungen der Außenfaktoren noch eine gewisse Zeit beibehalten wird. In dieser Arbeit dauerten die tagesperiodischen Schwankungen nach Überbringen der Gewebestückchen von einem Licht-Dunkel-Wechsel in Dauerdunkel ohne abzuklingen fort. Selbst nach 2 und sogar 4 Monaten Dunkelheit waren noch periodische Wachstumsänderungen festzustellen. Die Extrempunkte waren hierbei an keine bestimmte Tageszeit gebunden. Die Möglichkeit, daß der Rhythmus durch die Umpflanzungsreize angestoßen worden ist, ist nicht ausgeschlossen. Eine direkte Folge der bei den Messungen ausgeübten Reize kann der Rhythmus nicht sein, weil er tagesperiodisch ist und die Meßabstände meist 4—5 Std betrugen. All diese Tatsachen lassen vermuten, daß die endogenen Faktoren bei dieser Rhythmik eine bedeutende Rolle spielen. Vielleicht ist es gerade das Charakteristische einer Rhythmik bei kleineren, aus gleichartigen Zellen aufgebauten Einheiten, daß sie im Gegensatz zur Rhythmik in ganzen Organen nicht abklingt.

Zu den endogenen Faktoren kommen äußere hinzu. Ihnen fällt hauptsächlich die Einregulierung der Rhythmik zu. Licht reguliert, wie wir sahen, sehr rasch; meist genügt schon eine Lichtperiode.

Wie wir aus den Versuchsergebnissen ersehen haben, hört bei vielen Gewebestückchen das Wachstum im Zeitpunkt des Wachstumsminimums nicht nur auf, sondern es tritt sogar ein Schrumpfen ein. Dieses Schrumpfen ist bei den langsam wachsenden Stückchen besonders stark. Das Gewebestückchen schwillt meist periodisch stärker an und schwächer wieder ab. Diese Flächenänderungen sind wohl darauf zurückzuführen, daß Wasser abwechselnd eingesogen und wieder abgegeben wird. Auch die Gewichtsänderungen dürften in erster Linie einem unterschiedlichen Wassergehalt zuzuschreiben sein. Solche reversiblen Flächen- und Gewichtsänderungen müssen ein Zeichen für Turgorschwankungen sein. Als Ursache von Turgorschwankungen führen

LEPESCHKIN (1934) und BÜNNING (1942) Änderungen in der Permeabilität ein. Nach BÜNNING können aber Permeabilitätsschwankungen auch die Ursache von Wachstumsschwankungen sein. In beiden Fällen führt die Änderung der Permeabilität zu einer Änderung der Wasseraufnahme. Bei meinen Versuchen dürften Wachstums- und Turgorschwankungen an der beobachteten Rhythmik beteiligt sein. Bei langsam wachsenden Gewebestückchen wirken sich die Turgorschwankungen stark aus; bei stärker wachsenden gehen diese allmählich in einen reinen Wachstumsrhythmus über.

Eine gewisse Ähnlichkeit mit diesen periodischen Turgor- und Wachstumsschwankungen haben die Ergebnisse einiger in den letzten Jahren erschienenen Arbeiten, bei denen die Änderung des Wassergehaltes ebenfalls eine große Rolle spielt. WHITE (1939) entdeckte bei Tomatenwurzeln, die in vitro kultiviert wurden, eine kontinuierliche und rhythmische Abscheidung des Blutungssaftes. SPEIDEL (1939) stellte bei verschiedenen Pflanzen ebenfalls eine 24stündige Periodizität im Bluten fest. Nach ihm sind die täglichen Maxima an keine bestimmte Tageszeit gebunden, sondern die Zeit ihres Erscheinens ist von der Zeit des Köpfens abhängig. Als regulierende Außenfaktoren sind hier also die Wundreize bei der Dekapitation zu werten. Eine periodische Wasserausscheidung fand HEIMANN (1950) in einer Guttationsrhythmik bei *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Auffallend an dieser Rhythmik ist die geringe Beteiligung der endogenen Faktoren. Diese machten sich interessanterweise in einem Rhythmus von 12stündiger Schwingungsdauer geltend. Besonders interessant sind die Beobachtungen HAGANs an dekapitierten Wurzeln von *Helianthus annuus*; denn hier kann ähnlich wie bei meinen Versuchen die endogene Tagesrhythmik nicht nur zu Schwankungen der Wasserabgabe führen, vielmehr erfolgt unter bestimmten Versuchsbedingungen am Tage Wasserausscheidung, in der Nacht Wasseraufnahme.

Kürzlich (1951) berichtete KANDLER über eine Wachstumsrhythmik bei in vitro kultivierten Maiswurzeln. Im Dauerlicht zeigten sich bei den schneller wachsenden Wurzeln periodische Schwankungen, deren Schwingungsdauer nicht konstant war. Die endogene Natur war bei dieser Rhythmik ziemlich stark ausgeprägt. Vielleicht gibt es bei den verschiedenen Objekten und physiologischen Prozessen laufend Übergänge zwischen einer extrem endogenen und einer extrem aitiogenen Rhythmik. Vielleicht treten sogar bei isolierten Organen und Geweben die endogenen Faktoren stärker in Erscheinung als bei ganzen Pflanzen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

An Gewebekulturen von *Daucus carota* wurden mit 2 Methoden Wachstums- bzw. Turgorschwankungen gemessen, nämlich entweder

durch mikroskopische Bestimmung der Flächenänderungen oder durch Wägung der Kulturen.

Kulturen, die im Hell-Dunkel-Wechsel kultiviert und gemessen worden sind, weisen tagesperiodische Wachstums- bzw. Turgoränderungen auf. Bei gleichartigem Licht-Dunkel-Wechsel verlaufen die Einzelkurven synchron. Die Lichteinwirkung dauerte teils von 6 Uhr morgens bis 18 Uhr abends, teils von 7 Uhr morgens bis 19 Uhr abends.

Bei den Versuchen mit mikroskopischer Wachstumsmessung zeigten die Kurven im Laufe eines Tages meist zwei Maxima: eines am Morgen (etwa 8 Uhr) und eines am Abend (etwa 18 Uhr). Das Minimum in der Nacht (24—2 Uhr) ist stets stark ausgeprägt, während ein Nebenminimum um die Mittagszeit (etwa um 13 Uhr) nicht immer klar zutage tritt.

Bei den gravimetrischen Versuchen zeigten sich die Extrempunkte etwas früher. Das Nachtminimum liegt zwischen 22 und 24 Uhr und das Tagesminimum gegen 9 Uhr. Bei ihnen kann man meist nicht zwischen Haupt- und Nebenminimum unterscheiden: teils ist das eine, teils das andere stärker ausgebildet. Die Lage des Tagesminimums ist vielleicht so zu erklären, daß durch den Beleuchtungsbeginn zunächst eine Wachstumshemmung eintritt.

Kulturen, die nach einem Hell-Dunkel-Wechsel in dauernde Dunkelheit gestellt worden sind, setzen ihren Rhythmus fort. Der anfängliche Synchronismus im Kurvenverlauf geht in der Dunkelheit nach einigen Tagen allmählich verloren. Der Grund dafür kann in der nicht genauen 24stündigen Gesamtschwingungsdauer der Rhythmik oder in der Einwirkung kleiner, unbekannter Reize liegen, die auf jede Kultur für sich wirken. Daraus kann der Schluß gezogen werden, daß der Licht-Dunkel-Wechsel ein steuernder Faktor für den Kurvenverlauf ist.

Kulturen, die längere Zeit (bis 4 Monate) in Dunkelheit gestanden haben, zeigen immer noch periodische Schwankungen, die ungefähr 24-(12)stündig sind. Die Einzelkurven verlaufen nicht mehr synchron; ihre Extrempunkte sind an keine bestimmte Tageszeit gebunden.

Werden solche Dunkelkulturen mit ihrem asynchronen Kurvenverlauf wieder dem Licht-Dunkel-Wechsel unterworfen, so verschieben sich die Extrempunkte in der Weise, daß sie in die oben beschriebenen Tageszeiten zu liegen kommen. Diese Einregulierung geht sehr rasch vor sich; sie wird wahrscheinlich durch eine Lichtperiode, wenn nicht schon durch einen einzigen Beleuchtungswechsel vollzogen.

Da der Rhythmus in der Dunkelheit fortgesetzt wird, und der Synchronismus der Einzelkulturen mit der Zeit verlorengeht, kann geschlossen werden, daß die endogenen Faktoren am Zustandekommen dieser Rhythmik stark beteiligt sind.

Herrn Prof. Dr. Bünning danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit.

Literatur.

Bünning, E.: Z. Bot. **37**, 433 (1942). — Bünning, E., u. W. Enderle: Naturwiss. **37**, 271 (1950). — Engel, H., u. M. Heimann: Planta (Berl.) **37**, 437 (1949/50). Flügel, A.: Planta (Berl.) **37**, 337 (1949/50). — Gautheret, R. I.: Manuel technique de culture des tissus végétaux. Paris 1942. — Hagan, R. M.: Plant Physiology **24**, 441 (1949). — Heimann, M.: Planta (Berl.) **38**, 158 (1950). — Kandler, O.: Biol. Zbl. **70**, 64 (1951). — Lepeschkin, W. W.: Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 475 (1934). — Nobecourt, P.: C. r. Soc. Biol. Paris **130**, 1271 (1939). — Speidel, B.: Planta (Berl.) **30**, 67 (1939/40). — Weber, E.: Variations- und Erblichkeitsstatistik. Jena 1935. — White, Ph. R.: Amer. J. Bot. **25**, 223 (1938); **26**, 59 (1939).

W. Enderle, Tübingen, Botanisches Institut.

Autorenverzeichnis des 39. Bandes.

Anhaeusser, H. s. Kühlwein, H. S. 476.

Bogen, Hans Joachim, Über Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion. I. Mitteilung. Die Wirkung von LiCl und Neutralrot und ihre Abhängigkeit von der Konzentration und dem osmotischen Wert in der Außenlösung. S. 1.

Bünning, E., Über die Differenzierungsvorgänge in der Cruciferenwurzel. S. 126.

— Der tagesperiodische Verlauf der Substanzproduktion und speziell der Zellulosesynthese in Beziehung zur photoperiodischen Reaktionsweise. S. 460.

Enderle, W., Tagesperiodische Wachstums- und Turgorschwankungen an Gewebekulturen. S. 570.

Engel, H., und I. Friederichsen, Das Licht als Ursache periodischer Guttationsschwankungen etiolierter Haferkeimlinge. S. 309.

Ernst-Schwarzenbach, M., Die Ursachen der verminderten Fertilität von *Elodea*-Arten. S. 542.

Ertl, Leopold, Über die Lichtverhältnisse in Laubflechten. S. 245.

Friederichsen, I. s. Engel, H. S. 309.

Gessner, Fritz, und Gertrud Volz, Die Kutikula der Hydropoten von *Nymphaea*. S. 171.

Haeckel, A., Beitrag zur Kenntnis der Pollenfermente. S. 431.

Heilmann, Ursula s. Ruhland, Wilhelm. S. 91.

Höhn, K., Beziehungen zwischen Blutung und Guttation bei *Zea Mays*. S. 65.

— Untersuchungen über den Einfluß von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Entwicklung der Hypokotylknospen von *Linum usitatissimum* und die Kotyledonarknospen von *Vicia Faba*. S. 338.

Hövermann, I., Über Strukturveränderungen an Chromozentrenkernen unter dem Einfluß von Aminosäuren und ähnlichen Substanzen. S. 480.

Kahl, H., Über den Einfluß von Schüttelbewegungen auf Struktur und Funktion des pflanzlichen Plasmas. S. 346.

Kaussmann, Bernhard, Morphologische und anatomische Studien an *Schizocapsa plantaginea* Hance. S. 91.

Kirchheimer, F., Über das Vorkommen einer Gattung der Humiriaceen im europäischen Tertiär. S. 75.

— Über *Antweileria* und andere Gattungen der Juglandaceen. S. 527.

Kühlwein, H., und H. Anhaeusser, Veränderungen des Gymnospermenpollens durch Lagerung. S. 476.

Linser, H., Versuche zur chromatographischen Trennung pflanzlicher Wuchsstoffe. S. 377.

Pohl, Richard, Das Hemmstoff-Wuchsstoffsystem des Maisskutellums. S. 105.

Rudorf, Wilhelm, und Paul Schwarze, Polyploidie-Effekt bei *Datura tatula*. S. 36.

Ruhland, Wilhelm, und Ursula Heilmann, Über die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis* für Anelektrolyte bei Narkose mit den homologen Alkoholen C_1—C_5, als Beitrag zur Ultrafiltertheorie. S. 91.

Schaede, Reinhold, Über die Blaualgensymbiose von *Gunnera*. S. 154.

Schmitz, J., Über Beziehungen zwischen Blütenbildung in verschiedenen Licht-Dunkelkombinationen und Atmungsrhythmik bei wechselnden photoperiodischen Bedingungen. (Untersuchungen an *Kalanchoë Bloßfeldiana*.) S. 271.

Schwarze, Paul s. Rudorf, Wilhelm. S. 36.

Steffen, Kurt, Zur Kenntnis des Befruchtungsvorganges bei *Impatiens glanduligera Lindl.* Cytologische Studien am Embryosack der Balsamineen. S. 175.

Thielke, C., Über die Möglichkeiten der Periklinalchimärenbildung bei Gräsern. S. 402.

Wetter, C., Über die Luftwurzeln von von *Oleandra*. S. 471.

Volz, Gertrud s. Gessner, Fritz. S. 171.

Zeller, O., Über Assimilation und Atmung der Pflanzen im Winter bei tiefen Temperaturen. S. 500.